

**ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE
DE LYON**

Année 1981 - N. 1

**CARENCE EN VITAMINE E SELENIUM
DIAGNOSTIC ENZYMATIQUE
CHEZ LA VACHE ALLAITANTE CHAROLAISE**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - **LYON**

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 5 janvier 1982

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Jean-Louis FORT
né le 14 juin 1954
à DIJON (Côte-d'Or)



1867

1868

1869

1870

1871

1872

1873

1874

1875

1876

1877



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE
DE LYON

Année 1981 - N.

CARENCE EN VITAMINE E SELENIUM
DIAGNOSTIC ENZYMATIQUE
CHEZ LA VACHE ALLAITANTE CHAROLAISE

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 5 janvier 1982

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Jean-Louis FORT
né le 14 juin 1954
à DIJON (Côte-d'Or)



Année 1951 - 52

CHIEZ LA VACHE ALLAITANTE CHARGÉE
DIAGNOSTIC ÉNÉMATIQUE
D'UNE INFECTION À BACTÉRIE

THÈSE

Présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

(Médecine Vétérinaire)

et soutenue publiquement le 8 janvier 1952
devant le jury composé de Messieurs Vétérinaires



Présentée par
le Docteur en Médecine Vétérinaire
Monsieur J. B. B. B.



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

DIRECTEUR

M. le Professeur COTTEREAU

DIRECTEURS HONORAIRES

MM. les Professeurs TAPERNOUX -
FLORIOT - FROGET.

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire
Maître de conférence
Maître assistant

M. LORGUE
M. KECK
M. JAUSSAUD

Pharmacie et toxicologie.

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MÉDICALES

Professeur titulaire
Maître assistant

M. DELATOUR
M. GARNIER

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale.

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire
Maître assistant

M. BARCNE
M. DENOIX

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie.

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

Professeur titulaire
Professeur sans chaire

M. BOST
M. BOIVIN

Physiologie - Thérapeutique
et Pharmacodynamie.

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire
Professeur sans chaire

M. TISSEUR
M. GASTELLU

Histologie - Embryologie
Anatomie pathologique.

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire
Maître assistant

M. CHANTEGRELET
M. DEMONT

Hygiène - Inspection - Contrôle technologique des
denrées alimentaires d'origine animale.

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire
Maître de conférence
Maître assistant

M. EUZEBY
M. GEVREY
Mme CHAUVÉ

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique.

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES
ET CARNIVORES

Professeur titulaire
Professeur sans chaire
Maître assistant agrégé

M. FONTAINE
M. LAPRAS
M. LEGEAY

Sémiologie et Pathologie médicale des équidés
et carnivores - Législation Vétérinaire et
Déontologie clinique.

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire
Professeur sans chaire
Maître assistant

M. COULON
M. LE NIHOUANEN
M. FAU

Propédeutique et Sémiologie chirurgicale
Technique chirurgicale - Pathologie chirurgicale
Clinique.

CHAIRE DE PATHOLOGIE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire
Maître de conférence
Maître assistant

M. COTTEREAU
Mme BRUGERE
M. THIN

Sémiologie et pathologie médicale du bétail
et des animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire.

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire
Professeur sans chaire
Maître assistant

M. BERTRAND
M. DESCHANEL
M. RACHAIL

Sémiologie et propédeutique - Pathologie de la
reproduction - Obstétrique - Clinique.

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZONOSSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire
Professeur sans chaire
Maître assistant

M. JOUBERT
M. PRAVE
M. CHOMEL

Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation
sanitaire.

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire
Maître de conférence
Maître assistant

M. OUDAR
M. RICHARD
M. EUZEBY

Microbiologie - Immunologie
Pathologie générale.

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire
Maître de conférence
Maître assistant

M. FROGET
M. FRANCK
Mlle COURSAT

Ethnologie - Génétique appliquée
Hygiène générale - Zootechnie - Elevage
Economie générale et des productions animales.

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur sans chaire

M. JEAN-BLAIN

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation.

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. le Professeur BERTRAND de la Faculté de médecine de Lyon.

M. le Professeur FONTAINE de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

M. le Professeur DELATOUR de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

L'Université Claude-Bernard (Médecine-Pharmacie) de Lyon et l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

Je dédie cette thèse

A ma femme Hélène

A mes enfants Adeline et Evrard.

A Monsieur le Professeur BERTRAND,
Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon,
Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la Présidence de notre jury
de thèse.
Très respectueux hommages.

A Monsieur le Professeur FONTAINE,
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Pour la marque d'intérêt qu'il porte à ce travail
en acceptant d'en être juge.
Respectueuse reconnaissance.

A Monsieur Le Professeur DELATOUR
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui a bien voulu faire partie de notre
jury de thèse.
Qu'il en soit remercié.

A Monsieur le Professeur WOLTER,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
que nous sommes heureux de remercier pour la bienveillance dont il a fait preuve à notre égard.

Qu'il reçoive ici nos hommages respectueux.

A Monsieur Fernand GENIN,

Docteur-Vétérinaire à la Société AEC.

Qui nous a toujours guidé dans l'élaboration de ce travail
avec bienveillance et rigueur scientifique.

Qu'il reçoive notre profonde reconnaissance.

A Monsieur Michel PICARD,

Docteur-Vétérinaire, chargé des recherches en nutrition
à la société AEC.

Pour les précieux conseils et l'aide bienveillante
Qu'il nous a promulgué tout au long de notre travail

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre
profonde gratitude.

A Monsieur LAMAND,

Docteur-Vétérinaire - Directeur du Laboratoire
des maladies nutritionnelles INRA au CRZV de Theix.

A Monsieur le Professeur ECCLACHE,

Chargé de recherche à l'Hôpital Desgenettes de Lyon.

A Madame QUARD,

Chargée de recherche au Laboratoire de physiologie
de la Faculté de Médecine de Lyon.

A Mademoiselle DURIX,

Ingénieur INRA au Laboratoire de Nutrition
à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de
cette thèse.

Qu'il nous soit permis de les remercier ici.

1ère partie : DIAGNOSTIC ENZYMATIQUE DES CARENCES ET SUBCARENCES EN
VIT. E ET/OU SE : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.

I N T R O D U C T I O N

La carence nutritionnelle en vit. E et/ou sélénium est responsable de manifestations cliniques variées (Dystrophies musculaires, affections vasculosanguines, troubles de la reproduction, etc...) dans la plupart des espèces animales. Tableau 1 - La pathogénie de ces affections est liée à l'étroite imbrication des rôles biologiques de la vitamine E et du sélénium. Schéma 1 - A cet égard, SCHWARTZ en 1967 préconise d'étudier conjointement cette vitamine et ce métal-loïde, puisqu'ils agissent soit en synergie, soit en complémentarité.

Le diagnostic de carence en vit. E - sélénium nécessite en premier lieu de tenir compte des symptômes et des lésions observés, de la disparition des troubles après l'instauration d'un traitement spécifique, ainsi que d'un certain nombre de données générales telle que la nature des sols influant sur la teneur en vit E - sélénium du fourrage. Néanmoins, dans le but de confirmer un diagnostic de carence en vit. E - Se, d'en évaluer le pronostic et plus encore d'établir une prophylaxie de ces affections, le clinicien pourrait faire appel au laboratoire (LAMAND, 1965).

Les dosages plasmatiques de la vitamine E et du sélénium sont difficiles, longs et coûteux donc peu adaptés à la routine. Il est nécessaire de recourir alors à un diagnostic expérimental "indirect" alliant spécificité, précocité, simplicité, efficacité et meilleur coût. Ce diagnostic repose d'une part sur la mise en évidence des lésions biochimiques existant au niveau enzymatique utilisateur, d'autre part sur l'étude d'une sélénoenzyme : la peroxydase du glutathion (GSH.Px) qui pourrait être le témoin de l'état de carence en sélénium d'un individu (CHAVEZ, 1979 - GENIN, 1979).

La première partie de ce travail est consacrée à une rapide esquisse des phénomènes biochimiques dans la fibre musculaire suivie d'une étude bibliographique des différentes enzymes choisies comme base de travail d'une seconde partie où sont analysées les variations de l'activité sérique de l'aldolase (ALD), de la créatine kinase (CK), des aminotransférases AspAT et AlAT, de la lacticoxydase (LDH) et ses 5 isoenzymes ainsi que celle de la peroxydase du glutathion (GSH.Px) chez des vaches allaitantes charollaises. Une discussion des résultats tente de déterminer quelle place peuvent prendre le dosage de ces enzymes parmi les tests de dépistage d'une carence en vitE et/ou sélénium.

Symptômes et Lésions	Espèces animales princip. atteintes	Agent prév. majeur		
		Vit E	Se	Anti- oxyd.
DYSTROPHIES MUSCULAIRES				
+ "maladie du muscle blanc"	ttes espèces, surtout veau agneau chevreau poulet	+ + ++AAS	+++ +++ +	0 0 0
+ "maladie du cœur rond"	dindon canard	+	++	
+ nécrose du gésier				
+ myopathie squelettique	canard lapin	++	0	0
+ fibrolipomatose	jeune bovin de boucherie			
+ "maladie cœur muriforme"				
+ mort brutale (sensib. injections fer) (viandes exsudatives .)	porc + veau	(++)		
AFFECTIONS VASCULOSANGUINES				
+ anémies	volailles porc saumon	+	+ ?	?
+ fragilité érythrocytaire	volailles porc rat homme	++	0	+
+ "diathèse exsudative"	volailles ("maladie pattes vertes" + porc saumon nourrisson prématuré	+ +	++	0
TROUBLES DE LA REPRODUCTION				
+ dégénérescence testicul.	rat cobaye volailles lapin chien porc singe	+ ++	0 +	0 +
+ mortalité embryonnaire	rat volaille lapin chien vache	++ +	+	+
+ rétention placentaire	vache	+	+	0
ALTERATIONS DES DIVERS ORGANES ET TISSUS				
+ système nerveux : "encéphalomalacie"	volailles nourrisson	++	0	+
+ tissu adipeux "maladie graisse brune"	ttes espèces (en premier carnivores)	+++	?	+
+ foie reins : stéatose nécrose	volailles porc ruminant animaux de laboratoire	+	+	0
+ pancréas : fibrose	volailles animaux de labo.	+	+++	
+ estomac intestin : ulcères diarrhées	volailles porc rat gros bovins	+	+	
+ os : gonflement de l'articul. tibiotarsien.	dindon	+	?	
+ Dents : dépigmentation défaut de l'émail	animaux de laboratoire	+	?	
+ utérus : color. brune	rat	+	0	
+ lait : baisse taux buty- reux, goût métal. lait	vache	+	0	
+ graisses de réserves : rancissement	produits boucherie et charcuterie	+	0	+

Tableau 1 : Les manifestations de la carence nutritionnelle en vitamine E et/ou sélénium (d'après R. WOLTER, 1975).

Vit. E

Se

EFFET ANTIOXYDANT

- Protection des membranes biologiques

- inhibe la formation des peroxydes
- détruit les "peroxydes naissants"

- Protection des substances biologiques

- Protéines à Fe non héminiques
- Fct. SH de NAD, FAD
- Vit A, carotènes, xanthophylles
- Graisses de réserves

METABOLISME ENERGETIQUE

- Décarboxylation oxydative des acides céto.
- Action sur la chaîne respiratoire ubiquinone (Q 10)
- (Synthèse - Mn^{2+} , AA aromatiques)
- (Protection)
- Maintien cytochromes b et c dans post-spaciale opt.
- Réduction cytochrome c par glutathion
- Sélénoprotéine cytochrome c

METABOLISME PROTEIQUE

- Diminue la synthèse de DNA
- Augmente aptitudes des ribosomes à lier AA
- Protège DNA de peroxydation

AUTRES ACTIONS

- Excrétion des stimulines
- Synthèse oxydative des prostaglandines
- Détoxication (Pb, ozone, peroxy. d'N, digitaline)
- Antagonisme avec Hg^{2+} , cd^{2+} , Ag^{2+} $MeHg^{2+}$, AsO^-
- Cofacteur enzymatique autre que GSH.Px (deshydrogénase - glycolyse réductase)

CONSEQUENCES DES CARENCES

Membranes cellulaires :

- Vaisseaux → hémorragies
→ DIATHÈSE EXSUDATIVE
- Hématies → Hémolyse

Membranes subcellulaires

- Mitochondries
- Lysosomes → DEGENERESCENCE
→ Inflammation

Maladie de la graisse brune

- ★ Qualités organoleptiques d'aliments.
- ★ Conservation défectueuse d'aliments.
- ★ Atteinte de la chaîne respiratoire

↓
Perturbation du transfert des électrons, des oxydations cellulaires, la synthèse d'ATP

- ★ Déficit enzymatique, hormonal et immunitaire (not. IgG)
- ★ Inhibition de la division cellulaire - action anticancérigène

Schéma 1 : Fonctions biologiques de la vit. E et du Se.
(d'après GENIN, 1979)

I - ETUDE DE CINQ ENZYMES, TEMOINS DES LESIONS D'UNE CARENCE

EN VIT E et/ou SE

A - Rappels biochimiques

Quelques données sur les phénomènes métaboliques normaux intervenant au niveau de la fibre musculaire faciliteront la compréhension des signes biochimiques témoignant de l'apparition et du développement des myopathies.

1) Biochimie de la contraction musculaire

L'énergie mécanique produite lors de la contraction musculaire provient de l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP. Plusieurs voies permettent la régénération de cette molécule :

- En premier lieu la glycolyse, qui par combustion du glyco-gène musculaire apporte rapidement l'ATP nécessaire.

- Puis secondairement, l'oxygénation des acides gras libres, la transphosphorylation de la phosphocréatine qui permet de régénérer l'ATP à partir de l'ADP en libérant la créatine, ainsi que la transphosphorylation de deux molécules d'ADP libérant une molécule d'ATP et une d'AMP. Schéma 2.

Parmi les enzymes des voies intervenant dans le fonctionnement de la fibre musculaire, notons l'intérêt médical de l'aldolase (ALD) et de la lactico-deshydrogénase (LDH) ; enzymes cytoplasmiques de la glycolyse anaérobie. Les transaminases AspAT et AlAT qui permettent les connexions essentielles entre le cycle de Krebs et le catabolisme des acides aminés méritent d'être citées également, ainsi que la créatine kinase (CK) puisqu'elle participe à la réaction de LHOMAN entretenant le transfert d'ions phosphates. Enfin l'ornithine carbamyltransférase (OCT), la glutamate deshydrogénase (GDH), la sorbitol deshydrogénase (SDH), l'isocitrate deshydrogénase (ICD), et l'hydroxybutyrate deshydrogénase (HBD) peuvent également témoigner du métabolisme de la cellule musculaire.

2) Répartition des enzymes AspAT - AlAT - LDH - ALD - CK

a - Répartition tissulaire

Dans les différentes espèces animales, la distribution quantitative des enzymes dans les tissus peut varier de manière non négligeable.

A titre d'exemple, et pour base d'étude de ce travail, nous reportons ces résultats pour les enzymes AspAT - AlAT - LDH - ALD et CK dans le tableau 2.

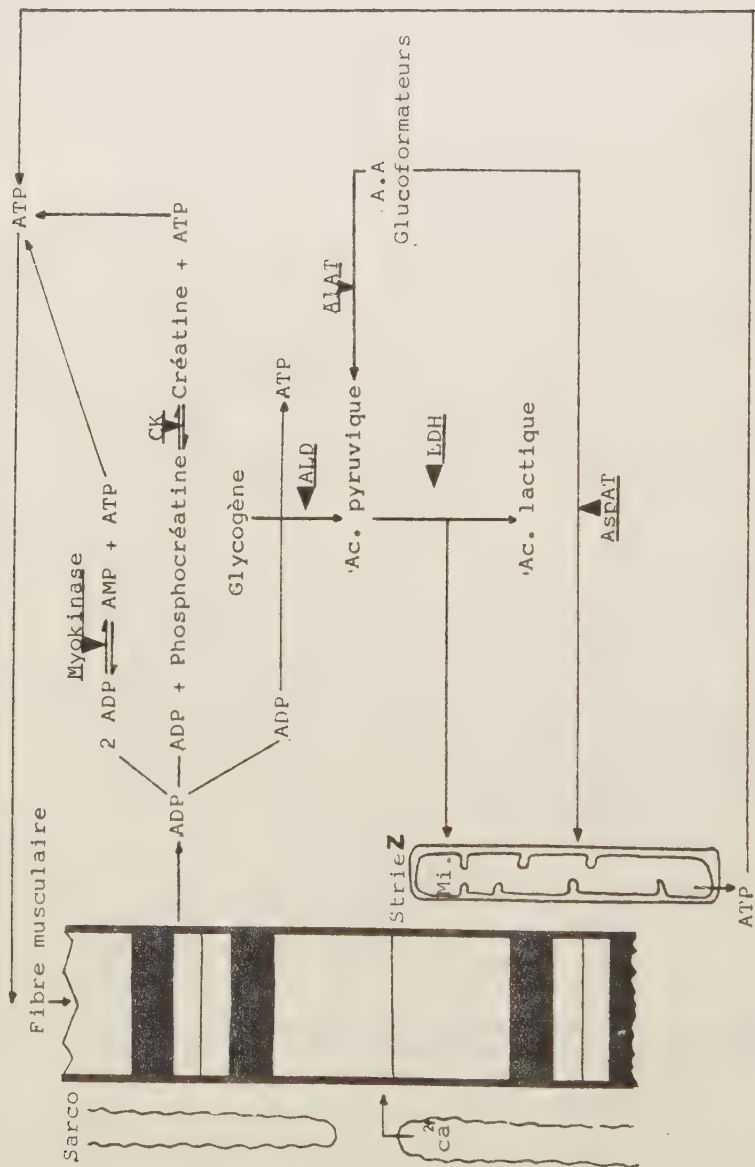


Schéma 2 : Régénération de l'ATP hydrolysée au cours de la contraction musculaire.
Importance des enzymes CK - ALD - LDH - AspAT - AlAT.

Enzymes	AspAT			AlAT			LDH		ALD	CK
Réf										
Tissus	1	22	3	4	5	6	7	8	9	10
Cerveau	34	56/11	-	16	27	-	27	14	85	2
Myocarde	70	100	100	67	29	100	100	29	59	4
M. Squelet	100	98/100	47	100	100	51	99	100	52	100
Foie	60	66/99	49	21	14	4	34	17	30	1
Rate	9	15/9	11	9	4	5	16	8	14	0
Rein	36	28/42	28	23	42	13	60	20	33	0
Pancréas	14	-	18	11	-	5	19	-	11	1
Placenta	40	-	-	20	-	-	39	-	100	0
Utérus	5	-	6	-6	-	-	9	-	14	4
Intestin	-	7/8	10	-	8	0	-	6	-	-
Poumon	-	7/7	6	-	7	-	-	6	-	-

Références : 1. 4. 7. 9. 10 : (KELLER, 1971) -
2. 5. 8 : (BOYD, 1962) -
3. 6 : (CORNELIUS et Coll., 1963).

Tableau 2 : Répartition tissulaire des enzymes AspAT - AlAT - LDH - ALD et CK chez les bovins.
(Chaque activité tissulaire y est exprimée en pourcentage de l'activité du tissu le plus riche en l'enzyme considérée).

b - Répartition de ces cinq enzymes dans la fibre musculaire

D'ordinaire, les enzymes musculaires qui se retrouvent dans la circulation sanguine sont localisées dans le sarco-plasme extramitochondrial. La CK est située dans la substance fondamentale, et les enzymes de la glycolyse (ALD, LDH) sont décelées dans la lumière du réticulum sarcoplasmique (CAO et Coll., 1970).

ARNOLD en 1968 travaillant sur le muscle de lapin, met en évidence l'ALD au niveau des bandes isotropes. In vivo, l'auteur montre que l'aldolase est liée à l'actine F et que cette liaison se fait au niveau de 2 sites différents. De même; une partie de LDH est liée à l'actine F, alors qu'aucune liaison n'est constatée pour CK. Néanmoins, la CK est certainement située dans l'environnement des filaments d'actine (BOKDAWALA et Coll., 1969 - DIETER, 1970).

Quant aux enzymes AspAT et AlAT, elles sont pour une partie libres dans le cytoplasme et pour l'autre liées aux mitochondries (CAO et Coll., 1970).

Cependant, de ces cinq enzymes, aucune n'est spécifique de la fibre musculaire striée squelettique.

3) Libération et devenir des enzymes cellulaires

a - Mécanisme de la libération des enzymes par la cellule musculaire

Au cours d'une myopathie, les enzymes musculaires passent dans la circulation sanguine par des mécanismes complexes encore mal connus :

- Par nécrose tissulaire, on peut admettre alors une diffusion simple de l'enzyme à partir de la cellule musculaire lésée.

- Lorsqu'il n'existe pas de nécrose apparente de la cellule, on envisage alors un phénomène de "souffrance cellulaire" qui modifie la perméabilité de la membrane. On adjoint une atteinte élective du sarcolemme ainsi que des membranes des organites cellulaires (Mitochondries, microsomes, lysosomes, réticulum sarcoplasmique) lors de carence en vit. E/Se (MOUTHON et Coll., 1972). Les modifications micromorphologiques musculaires et vasculaires observées en ultramicroscopie témoignent de cette souffrance. Schéma 3.

WEINSTOCK en 1958 établit que les muscles d'animaux rendus dystrophiques par carence en Vit. E/Se présentent un catabolisme accru lié à une hausse d'activité de la cathepsine entraînant un accroissement de l'autolyse, il s'en suit un envahissement des tissus par les macrophages et les phagocytes.

La chronologie et l'importance de la libération d'enzymes par la cellule musculaire sont la conséquence de l'action simultanée de différents facteurs qui sont :

- Le degré d'atteinte cellulaire,

- La répartition subcellulaire des enzymes : la libération des enzymes cytoplasmiques sera plus précoce et apparaîtra lors d'atteinte moins graves de la cellule alors que les enzymes localisées dans les organites seront libérées plus tardivement et pour des atteintes plus importantes.

- Le poids moléculaire de l'enzyme et son degré de solubilité dans le liquide organique.

- La richesse en enzyme de la cellule ; en effet, pour chaque enzyme, la quantité libérée dépend de sa concentration dans la cellule (BOYD, 1962).

b - Devenir des enzymes cellulaires dans le sang

Après leur libération, les enzymes disparaissent du plasma mais à des vitesses variables suivant l'enzyme considérée. On détermine pour chaque enzyme une demi-vie plasmatique correspondant à la période pendant laquelle l'activité sérique de l'enzyme diminue de moitié. Le mode d'élimination enzymatique ne serait pas la voie urinaire, mais l'activité catabolite du système réticulo-endothélial (FRIEDLAND et Coll., 1970).

La connaissance de la vitesse de disparition de l'activité enzymatique est très utile pour juger de l'intérêt d'un dosage enzymatique (Ubi infra).

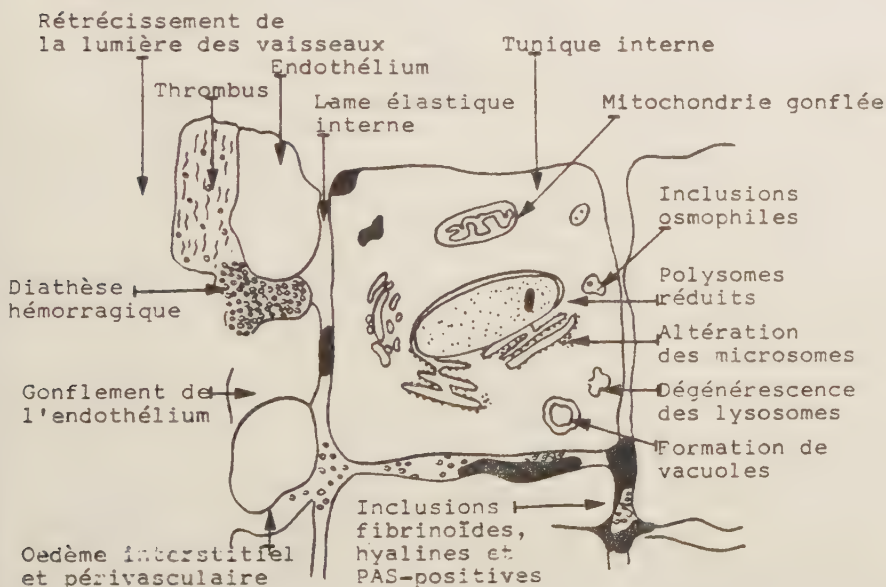


Schéma 3 : Représentation schématique des modifications vasculaires physio-pathologiques lors de carence en vit. E/Se.

Conclusion

L'exploitation fonctionnelle du muscle par la mise en évidence d'enzymes d'origine tissulaire dans le plasma permet de dégager l'importance de cinq enzymes suivantes : ALD - LDH - CK - AspAT - AlAT.

La mesure de leur variation d'activité pourrait être le témoin d'une dystrophie musculaire, notamment d'origine nutritionnelle.

Analysons chacune de ces enzymes maintenant.

B - Etude analytique

1) Les aminotransférases AspAT - ALAT

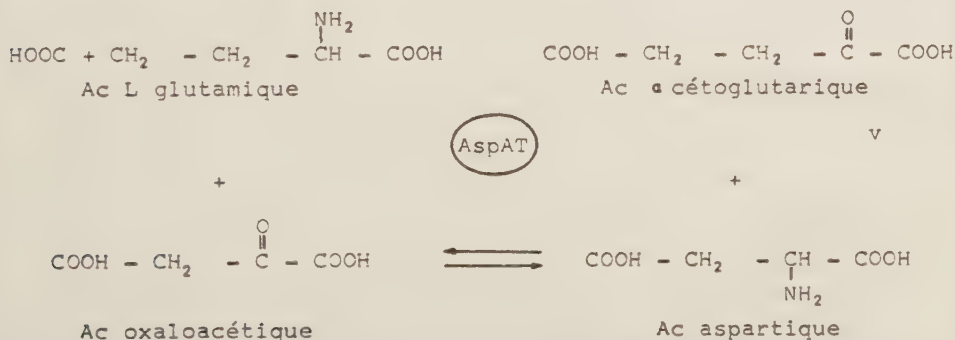
a - Enzyme et réactions catalysées

Les aminotransférases ou transaminases interviennent dans le métabolisme des acides aminés pour catalyser l'échange de la fonction α aminée d'un acide aminé donneur avec la fonction carbonyle d'un acide acétonique receveur selon le schéma suivant :



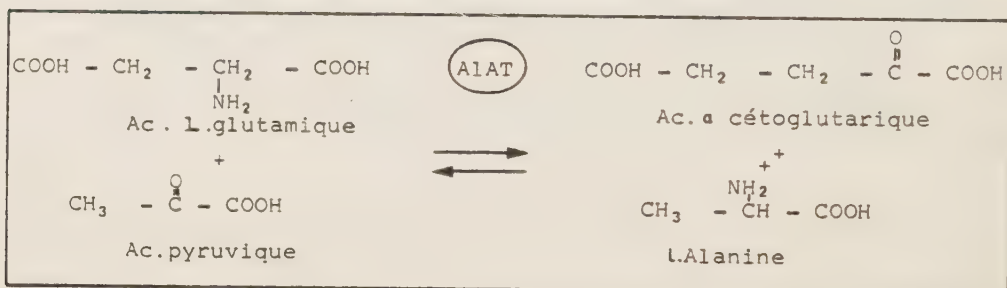
Dans l'organisme, l'acide aminé donneur est souvent l'acide glutamique ainsi transformé en acide αcétoglutarique pouvant lui, s'incérer dans le cycle de Krebs. On remarque l'importance des aminotransférases puisqu'elles permettent à certains acides aminés de s'intégrer dans le catabolisme intramitochondrial.

α. L'aspartate aminotransférase (AspAT) = glutamique oxaloacétate transaminase (GOT) = L'Aspartate : 2 oxoglutarate aminotransférase = E. C. 2. 6. 1. 1. catalyse la réaction suivante :



β. L'alanine aminotransférase (AlAT) = glutamique

pyruvate transaminase (GPT) = l'alanine : 2 oxoglutarate aminotransférase = E. C. 2. 6. 1. 2. catalyse la réaction suivante :



b - Valeurs sériques de référence - facteurs de variation
 α. Valeurs sériques de référence en UI/l . Tableau 3

ESPECES	AspAT	ALAT	Références
Bovins	40 - 75	-	HAGEMEISTER et Coll, 196
	17 - 39	1 - 16	KELLER et Coll, 1971
	20 - 40	6 - 13	RICO et Coll., 1973
Ovins	21 - 36	5 - 15	GAROUACHI, 1978
Caprins	16 - 19	5,3 - 5,6	GAROUACHI, 1978
Equidés	150	-	GEORGE ET Coll., 1971
	50 - 100	1 - 10	RICO et Coll., 1973
Chiens	4 - 30	2 - 30	RICO et Coll, 1973

Tableau 3 : Activité sérique (UI/l) de l'AspAT et de l'AlAT en fonction de l'espèce considérée.

Notons quant à la répartition tissulaire (Ubi supra), qu'à la différence de la schématisation souvent effectuée pour le chien : AspAT = muscle, AlAT = foie ; la répartition des deux transaminases chez les bovins montre qu'elles dominent toutes deux dans le muscle, qu'il soit squelettique ou myocardique.

En outre, des activités non négligeables sont observées dans le rein, la rate et le pancréas.

3. Facteurs de variations

HAGEMEISTER et Coll. en 1968 ont étudié les variations de l'activité AspAT, AlAT (ainsi que LDH). Ils montrent que les facteurs individuels ont la plus forte influence sur les variations totales (Δ : 32 p100 à 83 p100).

Ces mêmes auteurs montrent qu'il n'y a pas d'influence significative du jour de l'examen, mais il existe des oscillations journalières pour chaque animal (Δ : 1 à 2 p100).

Si l'AlAT ne varie pas au cours du cycle oestral, par contre AspAT reflète assez bien les changements hormonaux intervenant dans le cycle. (Activité importante à l'oestrus, activité moindre lors du dioestrus - ROUSSEL et Coll., 1967).

Chez les bovins, les variations AspAT, AlAT sont non seulement saisonnières, mais aussi en relation avec le stade de gestation et à un moindre degré avec l'âge et le poids de l'animal (BOOTS et Coll., 1969).

L'aspartate aminotransférase n'est pas fonction de la race (TUMBLESON et Coll., 1973). Enfin, la fatigue musculaire par le transport et l'effort entraîne une élévation des aminotransférases AspAT et AlAT (TOLLESRUDE, 1971 - AGNES et Coll., 1972).

c - Intérêt clinique des aminotransférases AspAT et AlAT

Le test le plus anciennement connu et le plus largement utilisé dans l'étude des troubles musculaires des animaux est certainement le dosage des aminotransférases. Cependant, ce test manque de spécificité car l'activité AspAT et AlAT est révélée dans de nombreux organes.

- L'AspAT du fait de sa très large répartition tissulaire, ne peut guère servir chez les bovins de reflet d'une lésion cellulaire donnée. Ses accroissements relèvent le plus souvent de troubles hépatiques ou musculaires (MEISSONNIER et Coll., 1976).

- L'AlAT peu abondante dans le foie des bovins, n'est pas ou peu affectée par les troubles hépatiques toxiques, infectieux ou parasitaires. Ses variations relèvent principalement de la pathologie musculaire. Néanmoins, le début de la gestation, l'enterite paratuberculeuse ou un traitement par glucocorticoïdes produisent des accroissements modérés de l'AlAT sérique.

L'augmentation de l'activité des aminotransférases sériques ne signifient donc pas d'emblée : atteinte musculaire, et le diagnostic ne deviendra positif qu'après un examen clinique concordant et surtout après la mise en évidence d'une forte activité sérique d'enzymes beaucoup plus spécifiques, telle la créatine kinase (Ubi infra).

La mesure de l'activité des aminotransférases (AspAT - AlAT) garde pourtant tout son intérêt dans l'étude des myopathies d'origine nutritionnelle.

Dès 1958, un certain nombre d'auteurs révèlent une élévation

de l'AspAT dans la maladie du muscle blanc chez les agneaux et les veaux ; ils l'utilisent à des fins diagnostiques (KUTTLER et Coll., 1958 - SWINGLE, 1958 - BLINCOE et Coll., 1960). BUCHANEN et Coll. en 1969 montrent chez des moutons carencés en vit. E une élévation de l'AspAT après une période latente de 20 jours.

MOUTHON, 1972 après avoir défini le taux normal d'AspAT chez des bovins témoins ($71,3 \text{ UI/ml} = \bar{x}$) constate une élévation de l'activité de cette enzyme chez les animaux myopathes ($207 \text{ UI/ml} = \bar{x}$), l'élévation d'AspAT précédant toujours l'apparition des symptômes.

Dans le cadre du diagnostic précoce de la myopathie dyspnée du veau, une activité supérieure à 115 UI (activité normale : 42 à 44 UI) signe une carence en sélénium (LAMAND, 1975). Afin de donner une signification clinique à la mesure de l'activité des aminotransférases, ce dernier auteur propose de déterminer le rapport AlAT/AspAT. Tableau 4.

	Valeurs normales	Limites pathologiques	Signification de $\frac{\text{AlAT}}{\text{AspAT}}$
AspAT (UI/l)	38 - 58	116	Myopathie $\frac{\text{AlAT}}{\text{AspAT}} < 0,5$
AlAT (UI/l)	1 - 10	24	Hépatite $0,5 < \frac{\text{AlAT}}{\text{AspAT}} < 1$

Tableau 4 : Signification de la mesure de l'activité des aminotransférases (LAMAND, 1975).

Chez le cheval, les maladies aiguës de la musculature squelettique se traduisent par des variations sériques de l'activité des transaminases (CORNELLIUS et Coll., 1963 - GERBER, 1964).

Les valeurs plasmatiques de l'AspAT et AlAT chez les chevaux atteints de diverses myopathies (notamment la dégénérescence musculaire du poulain) sont considérées comme des valeurs diagnostiques et pronostiques certaines. Une forte augmentation de l'activité des transaminases survenant dans les tous premiers stades du trouble est d'un pronostic très sombre, alors qu'une forte et rapide chute du taux pathologique indique l'amélioration de l'état du malade (HANSEN, 1970).

Des expérimentations conduites sur de jeunes porcs carencés en vit. E et Se provoquent chez ces animaux une élévation de l'activité des transaminases AspAT et AlAT sériques. La supplémentation en sélénium rétablit les activités enzymatiques à leurs valeurs normales (EWAN et Coll., 1970).

Par ailleurs, le rapport S.AspAT/S.CK constitue un excellent élément de diagnostic de la myopathie exsudative du porc ; en effet, tout rapport inférieur à 0,5 indique l'existence d'un trouble musculaire. Si ce rapport est supérieur à 10, le clinicien s'orientera préférentiellement vers une atteinte hépatique ou cardiaque. Enfin, si le rapport S.AspAT/S.CK s'inscrit dans l'intervalle défini par les valeurs limites données précédemment, le diagnostic devra être basé sur le dosage d'autres enzymes sériques (LDH - ALD) (BICKHARDT, 1969).

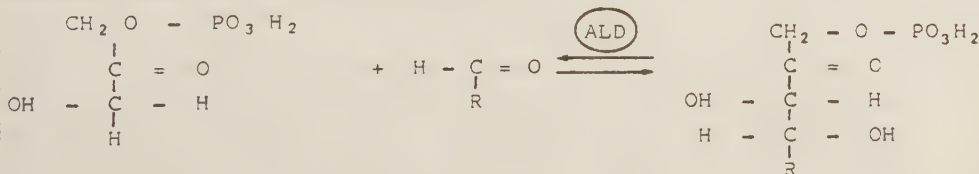
Deux points intéressants sont à noter à propos de l'AspAT : cette enzyme diminue quand le processus dégénératif s'améliore, son niveau d'activité étant en corrélation avec l'étendue de la dégénérescence mais non nécessairement avec la gravité des symptômes (OKSANEN, 1965). D'autre part, lorsque l'origine musculaire de l'affection est établie (par exemple par la mesure de l'activité de la S.CK), l'AspAT permet de suivre l'évolution de la lésion sur une période plus longue puisque sa demi vie sérique est supérieure.

2) L'aldolase - ALD

a - Enzyme et réaction catalysée

Découverte par MEYERHOF et LOHMAN en 1934, l'aldolase = Zymohexase = fructose 1. 6. diphosphate aldolase = E. C. 4. 1. 2. 13 a été ensuite isolée et cristallisée du muscle par WARBURG et CHRISTIAN. On a identifié deux aldolases différentes, chacune ayant une structure tétramérique. L'une attaque le fructose 1. 6. diphosphate (Aldolase A), l'autre attaque le fructose 1 monophosphate (Aldolase B). Une aldolase spéciale a été isolée dans le cerveau : Aldolase C.

Cette enzyme catalyse la réaction d'addition d'un aldehyde avec la phosphodihydroxyacétone.



La réaction la plus classique est celle qui donne naissance au fructose 1. 6. diphosphate, et qui inversement scinde cet hexose diphosphate en deux trioses phosphates : la phosphodihydroxyacétone et la phosphoglyceraldehyde ; FDP $\rightleftharpoons$ GAP + DAP.

Au niveau du muscle existe une très forte prédominance de l'aldolase A, son activité est plus de 50 fois supérieure à celle de l'aldolase B. Tableau 5.

Type A	Type B	Mixte A - B		Mixte A - C
		Prédom. A	Prédom. B	
Muscle Coeur	Foie	Rate	Intestin grêle	Cerveau Embryon de poulet
		Globul. rouges	Rein	
		organes foetaux		

Tableau 5 : Répartition des trois types d'aldolase.

Au cours de l'atrophie musculaire, quelque en soit son origine, il existe une modification de la répartition des isoenzymes de l'aldolase musculaire (ainsi que nous le verrons pour les isoenzymes de la LDH et de la CK) rapprochant le muscle atrophié du muscle foetal. Ainsi, lors de l'atrophie musculaire, la diminution de synthèse ou l'augmentation du catabolisme porterait surtout sur le type d'aldolase le plus spécifique (ALD A) et de façon moindre sur le moins spécifique (ALD B) entraînant alors une répartition semblable à celle trouvée dans les tissus foetaux (SCHAPIRA, 1969).

b - Valeurs de référence, facteurs de variation Tableau 6

Espèces	Valeurs moyennes UI/l	Références
Bovins	8,16 $\pm$ 6,1	KELLER, 1971
	5,9 - 22,6	DZIEWIECKI, 1979
Caprins	1,8	AGAR, 1979
Equidés	13,4	FREEDLAND, 1970
	16 $\pm$ 6	SUTTON, 1973
Porcins	20	BERMAN et Coll., 1971

Tableau 6 : Activités sériques de l'aldolase chez différentes espèces.

Bien que peu de travaux aient été effectués sur cette enzyme en médecine vétérinaire, la littérature relève néanmoins d'intéressants facteurs de variations ainsi :

L'activité de l'aldolase varie en fonction des saisons chez les bovins ; pour des lots identiques d'animaux, elle atteint en moyenne 22,6 UI en janvier alors qu'elle n'est que de 5,9 UI en août. L'évolution de l'activité de l'alanine aminotransférase est similaire, celle de l'aspartate aminotransférase est opposée. Ceci suggère un métabolisme quelque peu différent en été en comparaison avec l'hiver (DZIEWIECKI et Coll., 1979).

L'effort fait élever l'activité de l'aldolase plasmatique (HATZFELD et Coll., 1973). Inversement, le traitement par corticoïdes fait chuter l'ALD sérique, notamment chez le cheval (STRAUB et Coll., 1972).

A noter que les érythrocytes sont riches en ALD, c'est pourquoi, on ne doit pas utiliser de sérums hémolysés lors de l'analyse. Lorsque l'on emploie du plasma, on obtient des résultats un peu inférieurs à ceux obtenus avec les sérums il y aurait en effet libération d'ALD à partir des érythrocytes ou des thrombocytes lors de la coagulation (HATZFELD et Coll., 1973).

c - Intérêt clinique

En médecine humaine, on constate une augmentation du taux sérique d'aldolase (10 fois sa valeur normale) lors de myopathies, surtout dans la forme Duchenne de Boulogne, et dès le début du trouble dystrophique.

En médecine vétérinaire, le dosage de l'ALD n'est encore que très rarement utilisé.

Au laboratoire, CHUG et Coll., en 1960 ont décrit une myopathie héréditaire chez la souris et le poulet. Dans cette affection, l'aldolase augmente significativement dans le sérum.

D'autre part, chez les rats carencés en vit. E, l'activité plasmatique de l'aldolase s'élève. La supplémentation en vit. E normalise son activité (BOGUTH et Coll., 1968).

Chez 18 bovins atteints de dystrophie musculaire enzootique d'origine nutritionnelle, DOTA en 1972 constate une augmentation très sensible de l'activité sérique de l'aldolase (jusqu'à 102 fois son taux normal).

De même, les carcasses de porc présentant un muscle pâle, mou et exsudatif correspondant à des animaux dont le taux sérique de l'ALD est en moyenne de 161 UI, soit 8 fois le taux physiologique (BERMAN et Coll., 1971).

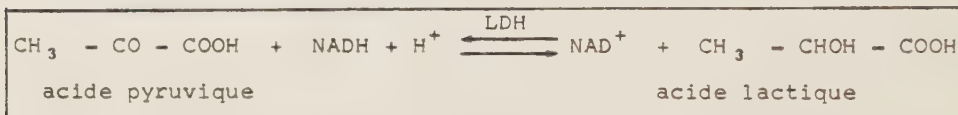
L'aldolase semble être un indicateur sensible de la lésion musculaire. Ainsi, chez le cheval, son taux sérique atteint une valeur maximale dans les 4 à 24 heures qui suivent les signes cliniques, le retour à la normale étant plus rapide. (EWAN et Coll., 1970).

3) La lacticodeshydrogénase (LDH) et ses isoenzymes

a - Enzymes et réaction catalysée

α. Réaction catalysée

La lacticodeshydrogénase = L lactate NAD^+ oxydoréductase = E. C. 1. 1. 1. 27 est une phérase ; c'est à dire qu'elle catalyse le transfert d'un radical H_2 d'une molécule (l'acide pyruvique à une autre (l'acide lactique). Cette réaction est réversible et se produit au cours de la dernière étape de la glycolyse anaérobie.



Au pH physiologique, la réaction est préférentielle du pyruvate au lactate.

Le schéma 4 de la glycolyse situe le rôle important de la LDH dans la phase anaérobie du métabolisme des glucides.

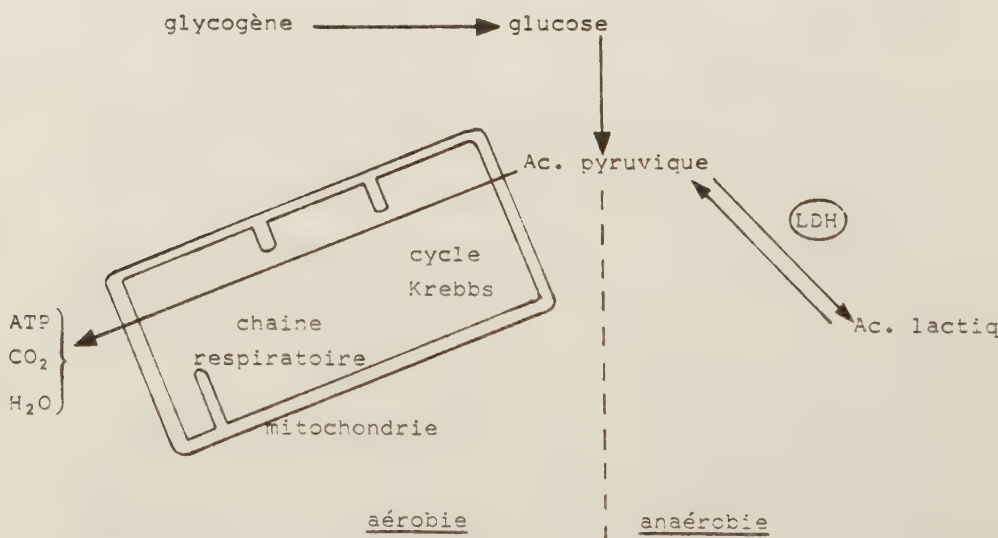


Schéma 4 : Activité de la LDH au cours de la glycolyse.

La glycolyse anaérobie peut être considérée comme le processus métabolique des "cas d'urgence" lorsque les capacités oxydatives du muscle sont dépassées. Ainsi, la LDH est active lors-

que la fibre musculaire est fatiguée ou malade et travaille en anaérobiose avec accumulation d'acide lactique.

Lorsque l'apport d'oxygène est correct, l'activité LDH est faible et correspond à l'oxydation des lactates en pyruvates.

β. Etude structurale

La LDH est le prototype d'une enzyme intracellulaire oligomère. Ses structures, I, II, III et IV sont actuellement bien connues.

L'étude électrophorétique de cette enzyme tétramétrique montre 5 bandes caractéristiques et décèle ainsi 5 types différents de l'enzyme : les isoenzymes LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄, LDH₅.

Chacun de ces types se distribuant de façon variable selon les tissus. Le muscle squelettique est caractérisé par la bande lente LDH₅. (l'activité des autres tissus est inférieure à 2 p100 de celle du muscle).

Les érythrocytes, le foie et surtout le muscle squelettique sont les sources majeures de LDH dans le plasma chez le porc. (HYLDGAARD - JENSEN, 1971).

Chaque isoenzyme est formée de 4 sous-unités de même poids moléculaire, les interactions de ces sous-unités étant essentielles pour l'activité de LDH (CHAN et Coll., 1976).

Il existe deux types de sous-unités immunologiquement distinctes, de composition différentes en acides aminés : Le type M (Musculaire) et le type H (cardiaque) de poids moléculaire 34 000. L'assemblage de 4 sous-unités M donne un type musculaire pur (M₄ = LDH₅) ; l'assemblage de 4 sous-unités H donne un type cardiaque pur (H₄ = LDH₁), il existe par ailleurs 3 autres possibilités d'hybrides (H₃ M₁ = LDH₂ ; H₂ M₂ = LDH₃ ; H₁ M₃ = LDH₄). (JAENICKE et Coll., 1971).

La synthèse des monomères M et H est commandée par des gènes différents, fait appuyé par la découverte des mutations (BOULANGER et Coll., 1971).

La synthèse de la sous unité spécifique du muscle est supprimée en présence d'une forte tension en oxygène et stimulée dans les conditions d'hypoxie, tandis que le contraire est vrai pour la synthèse de la sous unité spécifique du coeur. D'autre part, H. LDH est limitée aux mitochondries (siège des oxydations dans la cellule) alors que M. LDH se trouve en association avec le réticulum sarcoplasmique (position favorable à la réduction de l'acide pyruvique dans le circuit glycolytique). (GOLLNICK, 1976).

En corrolaire de ce qui vient d'être énoncé, on constate que le type de coeur qui est le plus sensible à la concentration en acide pyruvique intervient surtout dans les tissus où le métabolisme est de nature anaérobie, l'excès de pyruvate n'inhibe pas l'isoenzyme de type M₄ et la transformation d'acide pyruvique en acide lactique est facilitée. Pour illustrer cette distinction, on oppose la LDH du pectoral des oiseaux de basse cour de type musculaire M₄ à celle du pectoral des oiseaux migrateurs de type coeur H₄.

b - Répartition tissulaire, valeurs de référence, facteurs de variation

α. Localisation tissulaire des isoenzymes de la LDH
(Tableau 7)

	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
Myocarde	56,6	97,7	97,1	4,5	0,3
Gluteus	5,2	19,9	48,6	100	79,1
Masseter	89,5	74,9	32,4	0,0	0,0
Cortex rénal	100	72,1	1,9	0,0	0,0
Cerveau	67,4	76,0	100	4,9	0,0
Diaphragme	44,9	62,0	94,8	31,7	29,7
Pectoral	7,7	15,5	35,2	44,8	100
Foie	56,9	100	74,7	21,7	0,1
Rate	58,3	47,2	78,6	17,2	0,4

Tableau 7 : Répartition tissulaire des isoenzymes LDH des bovins (Les valeurs sont exprimées en pourcentage de l'activité de l'isoenzyme donnée, le tissu le plus riche étant pris pour base 100) d'après KELLER et Coll., 1972).

La LDH est très ubiquitaire chez les bovins, bien que son activité soit maximale au niveau du muscle squelettique et du myocarde. Les isoenzymes 4 et 5 peuvent être considérés comme spécifiques de certains muscles, alors que les isoenzymes 1 - 2 3 dominant dans le foie, la rate, le rein et l'encéphale ainsi que dans les muscles à activité régulière (diaphragme, masseter).

β. Valeurs de référence sérique de la LDH et de ses isoenzymes (Tableau 8)

γ. Facteurs de variation

Parmi les nombreux facteurs de variations, notons :

L'influence de l'exercice physique ainsi que celle du transport et de la fatigue musculaire sur le taux de LDH (TOLLESRUDE, 1971).

Le stress de capture chez les animaux produit une acidose métabolique et une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire avec une forte élévation du taux plasmatique de LDH (GERICKE et Coll., 1975).

L'hypoxie, l'anoxie, l'hypoglycémie, la contraction musculaire, les cathécholamines sont des facteurs stimulant la libération de LDH dans le sang ; inversement, les corticoïdes, l'ATP, les vitamines aux taux physiologiques inhibent ou diminuent la libération de LDH (SIEST et Coll., 1974).

Par ailleurs, il existerait un facteur de poids moléculaire relatif de 290 daltons capable d'inactiver la LDH₅ dans le sang (NEALSON et Coll., 1979).

De façon plus spécifique, chez les bovins, la consommation d'ensilage augmente significativement l'activité LDH par rapport à l'alimentation au foin (HAGEMEISTER et Coll., 1968). Par ailleurs, si le cycle oestral n'a pas d'influence sur la LDH, la lactation fait varier le taux de LDH (ROUSSEL et Coll., 1967), les auteurs mettent également en évidence des différences d'activité de la LDH sérique selon la saison, avec un maximum l'hiver.

Enfin, un sujet paraissant cliniquement sain peut présenter un isoenzymogramme anormal pour la LDH (7 bandes d'isoenzymes), LDH₂ et LDH₃ pouvant se complexer avec l'IgA ou les β lipoprotéines (TROCHA, 1977).

Espèces	LDH UI/l	Réf*	LDH ₁ p100	LDH ₂ p100	LDH ₃ p100	LDH ₄ p100	LDH ₅ p100	Réf*
Bovins	213-1094	1	31-42	27-28	24-47	5-10	2-4	6
			26-42	23-36	18-25	6-14	1-12	7
			44	26	19	6	4	8
Ovins	64-835	2	53,7	5,5	36,2	3,1	1,8	9
Porcins	---	---	37	48	12,5	1,4	1,2	10
Equidés	100-200	3	21,4	30,8	34,9	12,7	0,0-16,3	11
Carnivores	30-190	4	---	---	---	---	---	
Homme	85-200	5	22	39	19	11	9	12

* références : 1 : KELLER, 1972 - 2.9 : GAROUACHI, 1978 - 3 : DESAULTY, 1977 - 4 : LOEGERING et Coll., 1971 - 5 : LOUISOT - 6 : AGRESTI et Coll., 1971 - 7 : PRASE, 1969 - 8 : VAGHER et Coll., 1973 - 10 : VAN DEN HENDE et Coll., 1970 - 11 : GERBER, 1966 - 12 : VINCENT.

Tableau 8 : Valeurs de référence de l'activité de la LDH sérique et de ses isoenzymes chez différentes espèces.

c - Intérêt clinique de l'étude de la LDH sérique et de ses isoenzymes

L'intérêt clinique de la LDH est avant tout lié à la pathologie musculaire. Dans les lésions nécrotiques du type de la "dégénérescence cirreuse de ZENCKER", la LDH sérique est élevée dès le début de l'affection parallèlement à l'AspAT. Puis elle diminue très légèrement plus vite que cette dernière (BLINCOE et Coll., 1960).

Cependant, la LDH sérique est fortement augmentée dans les hépatites nécrosantes, les anémies hémolytiques, les infarctus cardiaques, les infarctus rénaux.

Le dosage des isoenzymes LDH permet de reconnaître le tissu lésé en fonction de leur distribution selon les organes :

LDH₁ est plus abondante dans le cœur et les érythrocytes,

LDH₂ et LDH₃ n'ont pas de localisations dominantes,

LDH₄ existe au niveau du foie, mais dans le muscle également,

LDH₅ existe dans le foie, mais surtout dans le muscle.

Ainsi, lors de dystrophie musculaire chez le veau, le taux normal de LDH sérique de 226 UI passe à 650 UI dans la forme cardiaque et 2849 UI dans la forme musculaire (DOTTA et Coll., 1972). Par ailleurs, dans la forme cardiaque, ces auteurs notent une élévation de LDH₁, alors que LDH₂ et LDH₃ sont plus faibles et LDH₄ - LDH₅ sont inchangés ; inversement, dans la forme musculaire LDH₁ (surtout) et LDH₂ baissent tandis que LDH₃₋₄₋₅ atteignent progressivement de très hauts niveaux.

De plus, la diffusion des enzymes est possible à partir de cellules peu atteintes lors de myopathie dégénérative, "les troubles biochimiques précèdent le trouble anatomo-pathologique". (MOUTHON et Coll., 1976).

Chez l'agneau, lors "du raide", on constate une élévation de la LDH sérique (BLINCOE et Coll., 1960).

Chez le porc, les animaux présentant une forte activité sérique de la LDH avant l'abattage révèlent une myopathie exsudative dépigmentaire (HYLDGAARD - JENSEN, 1971).

Des porcs carencés en vit. E et sélénium ont une activité LDH sérique augmentée par rapport à un lot témoin. La supplémentation avec le sélénium entraîne une diminution de la LDH, mais n'aboutit pas au rétablissement de son taux normal. Une supplémentation avec la vit. E seule permet à la LDH de retrouver son taux normal (CORBELLA et Coll., 1977).

Enfin, les variations différentes des isoenzymes de la LDH au cours de l'atrophie selon les espèces seraient expliquées par les différences ontogéniques entre ces mêmes espèces. Chez le rat ou la souris, les isoenzymes prennent très tôt le type adulte, l'atrophie musculaire ne détermine que peu ou pas de modifications de ces enzymes.

Au contraire, chez les espèces où l'ontogénèse isozymique est

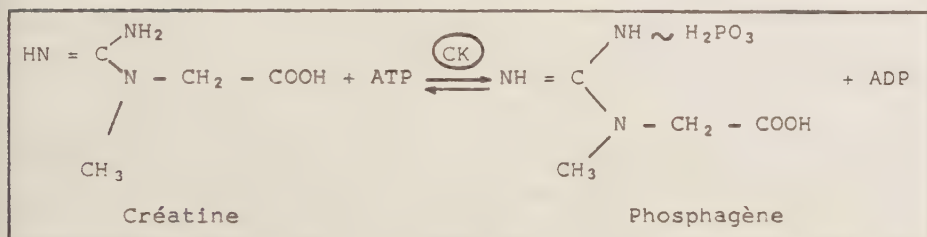
lente (homme, poulet, lapin) l'atrophie musculaire se caractérise par une modification des isoenzymes qui tendent à reprendre ou à conserver "un type foetal". (BOYD, 1963).

4) La créatine kinase (CK)

a - Enzyme et réaction catalysée

α. Réaction catalysée

La créatine kinase = créatine phosphokinase (CPK) = ATP créatine N - phosphotransférase = E. C. 2. 7. 3. 2. catalyse la réaction de LOHMANN de mise en réserve et d'utilisation de la réserve énergétique musculaire qu'est le phosphagène. En d'autres termes, elle catalyse le transfert d'un groupement phosphate entre l'acide adénosine triphosphorique et la créatine, soit l'équilibre suivant :



La réaction est favorisée en présence d'ions Mg^{2+} , Mn^{2+} et Ca^{2+}

β. Etude structurale de la CK

Découverte en 1927 par EGGLETON et désignée initialement sous le nom de phosphagène ; la CK fut ensuite obtenue cristallisée à partir du muscle de lapin par KUBY et Coll. en 1954.

Le poids moléculaire de la CK est de 81 000, mais la structure complète de cette enzyme n'est pas encore totalement connue.

L'enzyme contient 6 groupes SH dont deux sont librement réactifs, le nombre de sites actifs serait de un à deux par molécule, les substances à fonction thiol comme la cystéine ou le glutathion sont des activateurs puissants de cette enzyme (BENESCH et Coll., 1955).

L'électrophorèse d'extraits d'organes riches en CK (muscle, coeur, cerveau et thyroïde) révèle l'existence de 3 isoenzymes CK_1 , CK_2 , CK_3 ,

- CK_1 qui possède une grande mobilité est le composant unique trouvé dans le muscle, on le trouve également dans le coeur et la thyroïde.

- CK_3 qui est le moins mobile est le composant unique des extraits de cerveau, on le trouve également dans la thyroïde.

- CK_2 a une mobilité intermédiaire, on le trouve dans le coeur et la thyroïde.

La molécule de CK résulte de l'assemblage de deux éléments que l'on peut écrire M et B. $CK_1 = MM$; $CK_2 = MB$; $CK_3 = BB$. (GRAIZ et Coll., 1967). Ces deux éléments sont deux peptides (P.M : M = 42 100, B = 40 300) différant dans leur longueur par 15 acides aminés. Une scission de ces peptides par la protéinase K est concomitante de la perte complète d'activité. (WILLIAMSON et Coll., 1977).

b - Valeurs de référence - facteurs de variation

α. Valeur de référence de la CK sérique - Tableau 9

Espèces	Valeurs UI/l	Référence
Bovins	0 - 2 22 - 200 113,5	SOMMER, 1965 BOUDON, 1968 HOLMES, 1973 Cités par MOUTHON, 1967
Caprins	0,9 - 1,8	GORGE et Coll., 1971
Ovins	1,9 ± 1,3	GORGE et Coll., 1971
Equidés	0 - 2,8 1,3	COLOMBUS et Coll., 1964 GORGE et Coll., 1971
Chiens	1,2 ± 0,3	GORGE et Coll., 1971
Chat	0,8 ± 0,6	GORGE et Coll., 1971
Poule	109	GORGE et Coll., 1971

Tableau 9 : Valeurs de référence de l'activité sérique de la créatine kinase chez différentes espèces.

β. Facteurs de variations

L'activité sérique de la créatine kinase est fonction de l'espèce comme nous venons de le voir. Tableau 9. Et, pour une même espèce, l'intervalle de variation du taux de CK est très vaste : de 3 à 545 UI/l (BOUDON, 1968).

Chez les bovins, la CK sérique est fonction de la race (BOUDON donne des valeurs différentes des activités SCK chez les bovins limousins ($\bar{x}$ = 200 UI/l), charolais ($\bar{x}$ = 55 UI/l) et normands ($\bar{x}$ = 22 UI/l), elle est également fonction du sexe : le taux sérique de CK du mâle est supérieur à celui de la femelle, peut être cela est-il lié au développement musculaire du mâle supérieur à celui de la femelle. (PAYARD, 1970).

Le mode d'élevage pourrait avoir une influence sur le taux de CK, les valeurs sont beaucoup plus disparates chez les bovins limousins et charolais qui sont des animaux destinés à la boucherie et "forcés" du point de vue alimentaire que chez les animaux normands laissés seulement à l'herbage (BOUDON, 1968).

De nombreux autres facteurs de variation interviennent ; ainsi tout stress chez les animaux entraîne une élévation de la SCK (PATERSON et Coll., 1972), notamment le transport (AGNES et Coll., 1972) les traumatismes (IWAMOTO, 1969) voire la simple injection intramusculaire (JORGENSEN, 1972).

c - Intérêt clinique de la mesure de l'activité de SCK

Le taux de la créatine kinase sérique augmente dans tous les troubles musculaires (parésie spastique, tétanie hypomagnésémique, parésie puerpérale, etc...).

Le dosage de la CK est un test intéressant d'exploration du syndrome myopathie-dyspnée chez les bovins (MOUTHON, 1967). Les travaux de cet auteur sont complétés entre autre par ceux de MARGUIN, 1970 : Chez les animaux sains, le taux moyen est de 100 UI/ l chez les jeunes et de 95 UI/ l chez les adultes. Chez les bovins en état de crise, la valeur de SCK s'élève jusqu'à 800 UI/ l pour décroître ensuite et atteindre 250 UI/l au bout de un mois.

A noter que les taux sériques de CK augmentent fortement alors que les taux musculaires de cette enzyme ne semblent pas abaissés. Il est logique d'admettre que dans le muscle dystrophique, la synthèse des enzymes est considérablement accrue et une grande partie est aussitôt libérée dans la circulation (MOUTHON et Coll., 1972). De plus, le taux sérique de créatine kinase chez les mères d'animaux malades est significativement plus élevée que chez les adultes témoins. Cette notion est importante, car par le simple dosage de SCK sur les femelles destinées à la reproduction, on pourrait procéder à une prophylaxie des myopathies bovines en éliminant les reproducteurs à taux de SCK trop élevés (MARGUIN, 1970 - MOUTHON et Coll., 1972). TOLLESRUPE, 1971 provoque une myopathie chez les agneaux âgés de 10 jours sevrés et nourris avec une ration carencée en atocophérol. Comparativement à un lot témoin, les sujets carencés sont l'objet d'une élévation très significative de la SCK (taux x 1000). L'autopsie de ces animaux révèle une dégénérescence hyaline des fibres musculaires squelettiques.

La pathologie musculaire du porc (hypoplasie myofibrillaire congénitale du porcelet, myopathie exsudative dépigmentaire, myopathie d'origine nutritionnelle) est suspectée lors d'élévation de la créatine kinase sérique. Par ailleurs, les animaux de race pure ou croisée prédisposés au syndrome "stress" peuvent aisément être identifiés par leur haut taux en SCK. La mesure de l'activité de cette enzyme pourrait susciter une prophylaxie intéressante de cette affection. (PATERSON et Coll., 1972).

Chez le cheval, la SCK s'élève lors du tétanos, de myopathie nutritionnelle, et de myoglobininurie paralytique ; dans cette dernière affection et selon la gravité des symptômes, le taux de CK peut être multiplié par 500 (GERBER, 1964).

Si chez les animaux les myopathies d'origine nutritionnelle sont le plus souvent décrites, il existe néanmoins des dystrophies musculaires héréditaires chez les volailles révélées par une élévation significative de SCK.

Nous noterons par ailleurs que si le diagnostic de lésions musculaires peut être établi d'une manière sûr à l'aide du test de l'activité sérique de la CK, la condition en est toutefois que la lésion soit fraîche ou qu'il y ait une lésion durable des cellules musculaires jusque là intactes. Dans le cas contraire, le retour rapide de l'activité à la normale qui est caractéristique pour la créatine kinase pourrait conduire à des conclusions erronées (KELLER, 1971).

Au terme de ce chapitre, sont consignées dans le tableau 10 les modifications biochimiques apparues pour ces 5 enzymes chez des bovins cliniquement atteints de myopathies d'origine nutritionnelle.

Enzymes	Animaux sains sains	Animaux myopathes	Référence
CK UI/l	138	1245	MOUTHON, 1976
AspAT UI/l	55	1932	"
AlAT UI/l	6	160	"
ALD UI/l	8,1	18,6	KELLER, 1971
LDH ₇ UI/l	650	2849	DOTTA et Coll., 197
LDH ₁ p100	30,5	23,9	"
LDH ₂ p100	25,2	7,1	"
LDH ₃ p100	23,9	23,4	"
LDH ₄ p100	15,2	16	"
LDH ₅ p100	5,2	29,6	"

Tableau 10 : Modifications de l'activité enzymatique de certaines enzymes lors de myopathies nutritionnelles chez les bovins

De cela il ressort que de nombreuses enzymes présentes dans la fibre musculaire ont des activités sériques accrues lors d'affections musculaires. L'étude bibliographique de ces enzymes montre que la CK possède une intéressante spécificité pour la fibre musculaire squelettique. Pour les autres enzymes (ALD, LDH, AspAT, AlAT), leur distribution est beaucoup plus ubiquitaire ; cependant, du fait de leur importante activité au niveau du muscle strié, elles peuvent constituer dans le cadre d'un panorama enzymatique des éléments diagnostiques intéressants.

Cette enzymologie sémiologique permet une approche sensible et précise des processus lésionnels. C'est donc dire tout l'intérêt qu'elle offre pour le clinicien, complétant et confirmant le diagnostic clinique.

Elle sert également à l'évaluation pronostique de ces affections musculaires.

Enfin, des taux enzymatiques sériques anormalement élevés chez des animaux exempts de symptômes cliniques font émettre l'hypothèse d'un trouble biochimique précédant la lésion histologique elle-même antérieure à la lésion microscopique (dégénérescence cireuse de Zencker) et les signes cliniques. Ceci fait entrevoir des perspectives prophylactiques par "dépistage enzymatique" chez les animaux de rente avant abattage, limitant ainsi d'importantes pertes économiques par saisie à l'abattoir. (MOUTHON et Coll., 1972 - PATRIAS, 1969).

Vouloir localiser une souffrance cellulaire, en évaluer son étendue, sa gravité ou en suivre son évolution, nécessite parfois d'avoir recours à des méthodes beaucoup plus sélectives, notamment la mise en évidence des isoenzymes ; ce que nous tenterons de faire dans la seconde partie de ce travail en abordant une étude expérimentale des isoenzymes de la LDH.

Une exploration biochimique méthodique et rigoureuse lors de myopathies d'origine nutritionnelle, nécessiterait d'établir un profil isoenzymatique à partir des enzymes considérées dans ce chapitre.

Le coût et les difficultés de ces dosages ne permet souvent pas de les adapter à la routine et prive la médecine vétérinaire de ces précieuses informations.

II - LA PEROXYDASE DU GLUTATHION (GSH.Px) : TRACEUR D'UN ETAT

DE CARENCE EN SELENIUM DE L'ORGANISME

L'un des principaux rôles de la vitamine E et du sélénium (Métalloïde entrant dans la constitution de la molécule GSH.Px - Ubi Infra) consiste dans la protection des membranes biologiques qu'il convient de décrire en premier lieu.

A - Rappel de la structure membranaire

Les progrès réalisés ces dernières années en biologie cellulaire et en recherche cytologique ont considérablement élargi les connaissances sur les fonctions de la vit. E et du Se.

Les propriétés physico-chimiques aidées de la microscopie électronique ont conduit à proposer plusieurs modèles structuraux pour les membranes biologiques. DAVSON et DANIELLI en 1975 décrivent "une membrane unitaire, lamellaire" à deux couches constituées de protéines et de phospholipides ayant un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe. Schéma 5.

SINGER et NICHOLSON en 1972 "élargissent" le modèle antérieur. Ils distinguent deux sortes de protéines globulaires bidimensionnelles (des protéines périphériques et des protéines centrales) auxquelles ils adjoignent des enveloppes visqueuses formées de phospholipides et de cholestérol. Schéma 6a et 6b.

Les protéines et les lipides membranaires ont la possibilité de rotation et de déplacement latéral, d'où l'appellation de "prosaïque fluide" proposée par ces auteurs pour ce modèle dynamique de membrane biologique.

Les membranes intracellulaires, notamment celles des microsomes et des mitochondries possèdent un pourcentage d'acides gras insaturés plus élevé que dans les membranes cellulaires limitantes constituées pour l'essentiel de cholestérol et d'acides gras saturés. Elles sont de ce fait beaucoup plus sensibles à l'oxydation.

Nombreux systèmes enzymatiques sont liés à la membrane, notamment le système glutathion réductase (glutathion peroxydase). Parallèlement, la vit. E est concentrée dans les membranes des organites cellulaires ; elle adhère aux membranes internes des mitochondries entre autre (OLIVEIRA et Coll., 1969) et ce par l'intermédiaire d'une "protéine structurale" indépendamment de la composition en lipides de la membrane (TINBERG et BARBER, 1970). Selon ces derniers auteurs, l'action de la vit. E n'est possible qu'en association avec cette "protéine structurale", ce qui la diffère des antioxydants de synthèse couramment utilisés tels que le BHT (Butyl-hydroxy-toluène).

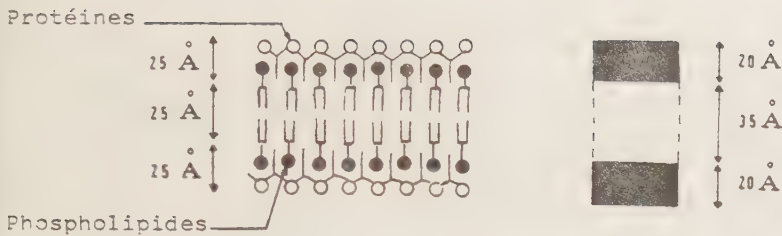


Schéma 5 : Architecture de la membrane plasmique, selon DAVSON et DANIELLI, 1975.

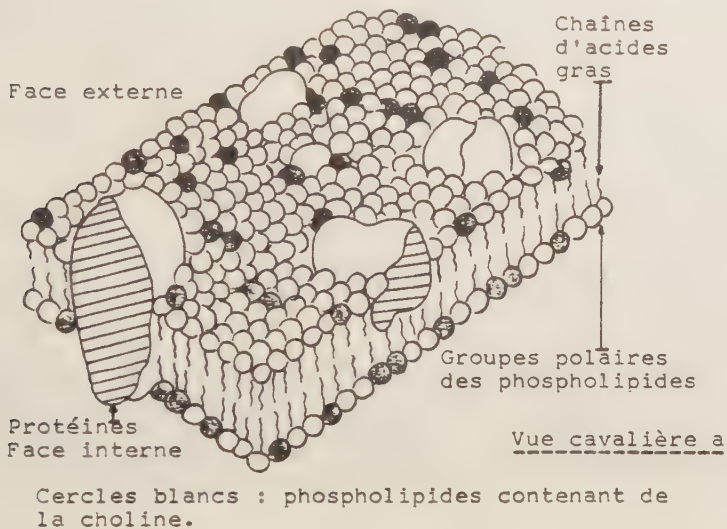
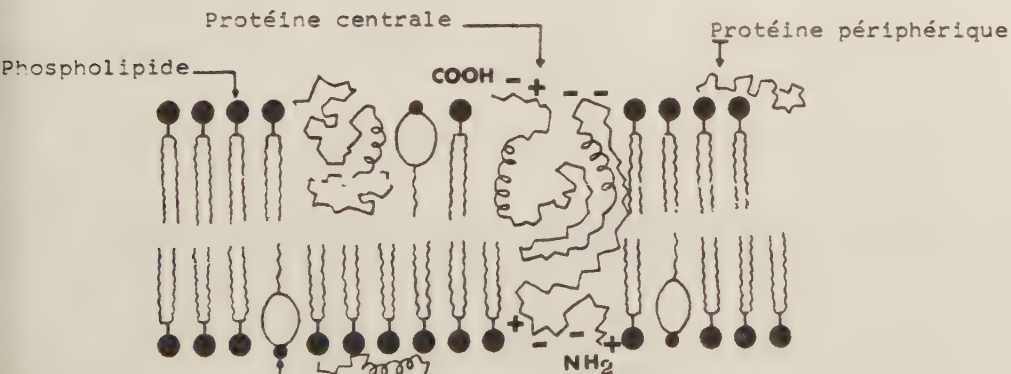


Schéma 6 : Modèle de membrane selon SINGER et Coll., 1974. (a - b)



B - La GSH.Px : Enzyme et réaction catalysée

La peroxydase du glutathion (GSH.Px) = glutathion peroxydase oxydoréductase = E - C 1.11.1.9 a été isolée des érythrocytes de mammifère par GARNER et MILLS en 1951 puis par MILLS et Coll. en 1957, 1958, 1959.

1) Structure et stabilité de l'enzyme

En 1972, ROTRUCK et Coll. mettent en évidence chez le rat une relation entre la déficience nutritionnelle en sélénium et une baisse d'activité de la GSH.Px des hématies. En 1973, ces auteurs découvrent que le sélénium est l'un des constituants de l'enzyme. La GSH.Px est une métalloïdoenzyme formée de 4 unités polypeptidiques d'un poids moléculaire de 21 000, chaque unité contenant outre du fer, un atome de Se. Lors de la catalyse, le sélénium va et vient dans la GSH.Px entre une forme sélénium Se^{2-} et une forme oxydée SeO .

Si pendant longtemps on a isolé qu'une peroxydase du glutathion, LAWRENCE et Coll. en 1976 en séparent deux par chromatographie à partir du foie du rat :

- La première, sélénodépendante, réduit les hydropéroxydes minéraux et organiques. Son poids moléculaire est d'environ 84 000, cette enzyme est désignée dans ce travail par GSH.Px.

- La seconde, non sélénodépendante, (GSH.Px non Se) réduit uniquement les hydropéroxydes minéraux. Son poids moléculaire est d'environ 39 000.

Le lieu de synthèse de la GSH.Px est encore mal connu. Il semble que le tissu hépatique puisse prendre un part importante dans l'anabolisme de cette molécule protéique. Ainsi, le foie est l'organe qui manifeste le taux le plus rapide de réapprovisionnement et de déperdition en sélénium lors de carence et recharge provoquées en ce métalloïde chez le porc (CHAVEZ, 1979).

La peroxydase du glutathion semble se conserver dans les liquides biologiques par congélation. Néanmoins, la littérature donne des avis quelques peu différents : WILSON et Coll. (1976) montrent que l'enzyme est stable au moins 6 jours dans les érythrocytes à $-15^{\circ}C$, dans le sang total à $10^{\circ}C$. Pour CAPLE et Coll., (1978), l'enzyme résisterait au moins 3 mois à $-20^{\circ}C$. Inversement, GSH.Px, est sensible à la chaleur ; elle est dénaturée de façon irréversible à partir de $50^{\circ}C$, ce qui est en accord avec sa structure protéique.

2) Réaction catalysée - Application au dosage de l'activité de la GSH.Px

La GSH.Px agit sur le radical - SH, très facilement oxydable, de la cystéine intégrée dans le glutathion selon la réaction

suivante :



Les substrats de la glutathion peroxydase sont divers peroxydes lipidiques, notamment l'hydropéroxyde de l'acide linoléique. La réaction citée précédemment, entre dans le mécanisme d'action du système glutathion peroxydase - glutathion réductase. Schéma 7.

La mesure d'activité de la GSH.Px repose sur cette chaîne de réactions (schéma 7) mise à profit dans la méthode de PAGLIA et VALENTINE, 1967 : l'activité de la GSH.Px est pratiquement corrélée à la vitesse d'oxydation du NADPH, dont on mesure, dans le milieu réactionnel, la diminution de fluorescence par spectrophotométrie.

Une variante de cette méthode à été proposée par BOARD et PETER (1976) puis par PETER (1980) : L'eau oxygénée y est remplacée par du T. B. H. (Tri-butyl-hydropéroxyde), une goutte du milieu réactif est déposée sur du papier filtre et regardée en lumière fluorescence, on en déduit la présence de NADPH (fluorescent naturellement) donc l'absence de la peroxydase du glutathion et inversement. Ainsi, la mise en évidence de la fluorescence, minute après minute est une mesure cinétique qui permet alors une approche quantitative approximative. Les résultats sont comparables à ceux obtenus par la méthode PAGLIA et VALENTINE (HYLDGAARD - JENSEN, 1977).

Notons enfin, qu'il existe des interrelations entre la GSH.Px et d'autres enzymes, notamment la catalyse et la superoxyde dismutase qui amène l'anion superoxyde à un stade qui pourra être détruit par la GSH.Px (FROST, 1976).

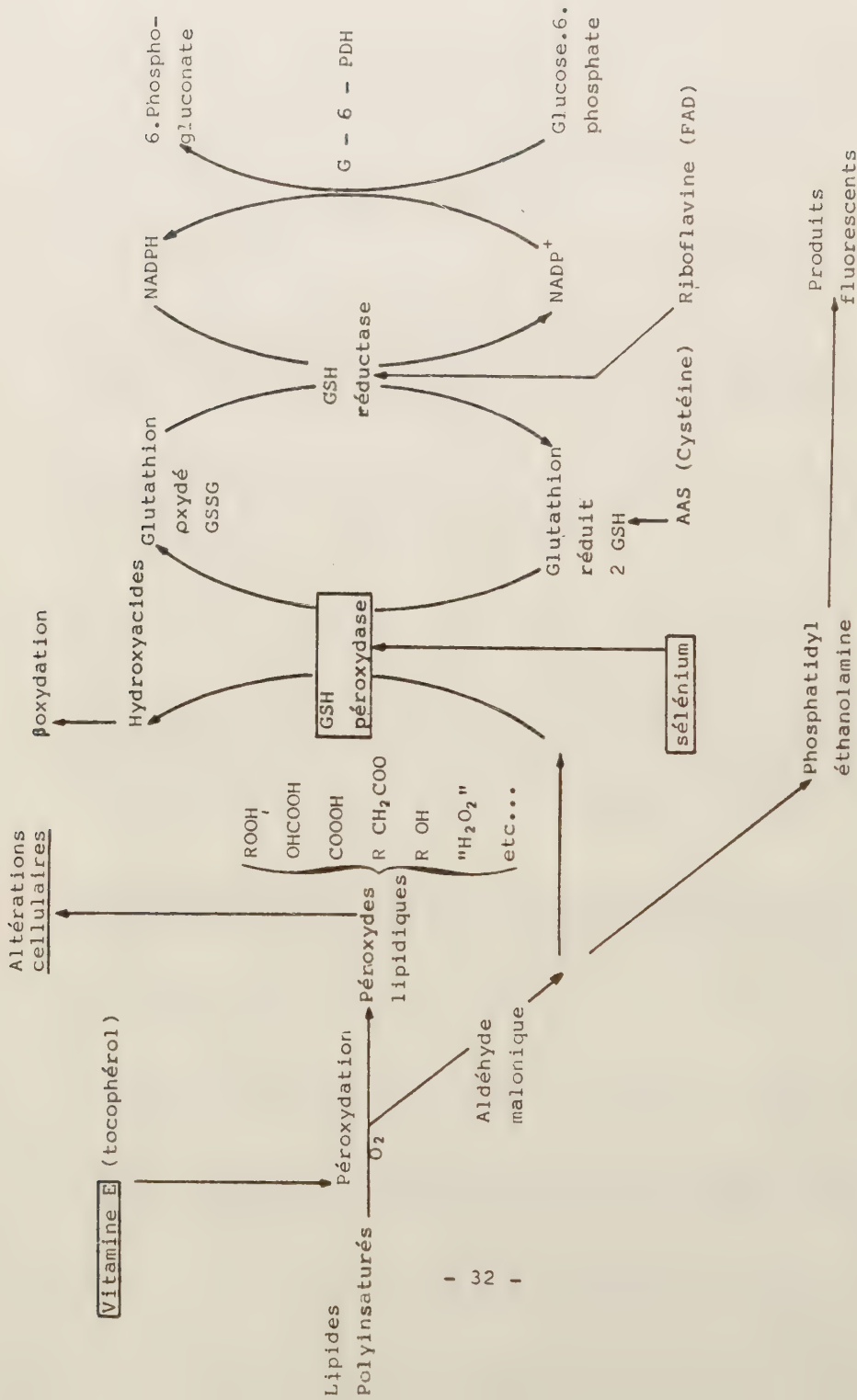


Schéma 7 : Mécanisme d'action du système glutathion peroxydase / glutathion réductase.

C - Fonction physiologique de la GSH.Px

La fonction physiologique de la GSH.Px est étroitement liée à celle de la vit. E et du sélénium (NOGUCHI et Coll., 1973).

La peroxydase du glutathion, et par la même le sélénium qu'elle contient, intervient dans la réduction des peroxydes lipidiques cellulaires en acides gras hydroxylés inoffensifs, débarrassant ainsi l'organisme des peroxydes formés en l'absence de Vit. E, ou d'autres antioxydants physiologiques (CHOW et Coll., 1973). De même, lors de surcharge oxydative anormale de la cellule, on constate une augmentation de l'activité de la GSH.Px (HAFFERMAN et Coll., 1974 - REISS et Coll., 1973). En corollaire, il semble que cette enzyme soit surtout présente dans les tissus plus spécialement exposés à des agents oxydants (poumon, sang, coeur, muqueuse digestive). Tableau 11.

Organes	Activité * spécifique	Protection nécessaire
Poumons	50 - 80	Peroxydation par O ₂ et par des traces de O ₃ dans les poumons
Plasma sanguin	30 - 50	
Erythrocytes	150 - 200	
Estomac	100	Peroxydes dans l'aliment
Intestin grêle	15	
Foie	250 - 350	Détaxification des peroxydes
Reins	60 - 150	Peroxydation des acides gras Polyinsaturés.
Testicules	40 - 120	
Muscles	10 - 20	

* : Activité spécifique : Nanomoles de NADPH oxydées par minute et par g de protéines.

Tableau 11 : Relation entre l'activité de la GSH.Px et le stress d'oxydation causé par les acides gras polyinsaturés dans différents organes du rat (d'après TAPPEL, 1974 - Documentation Roche).

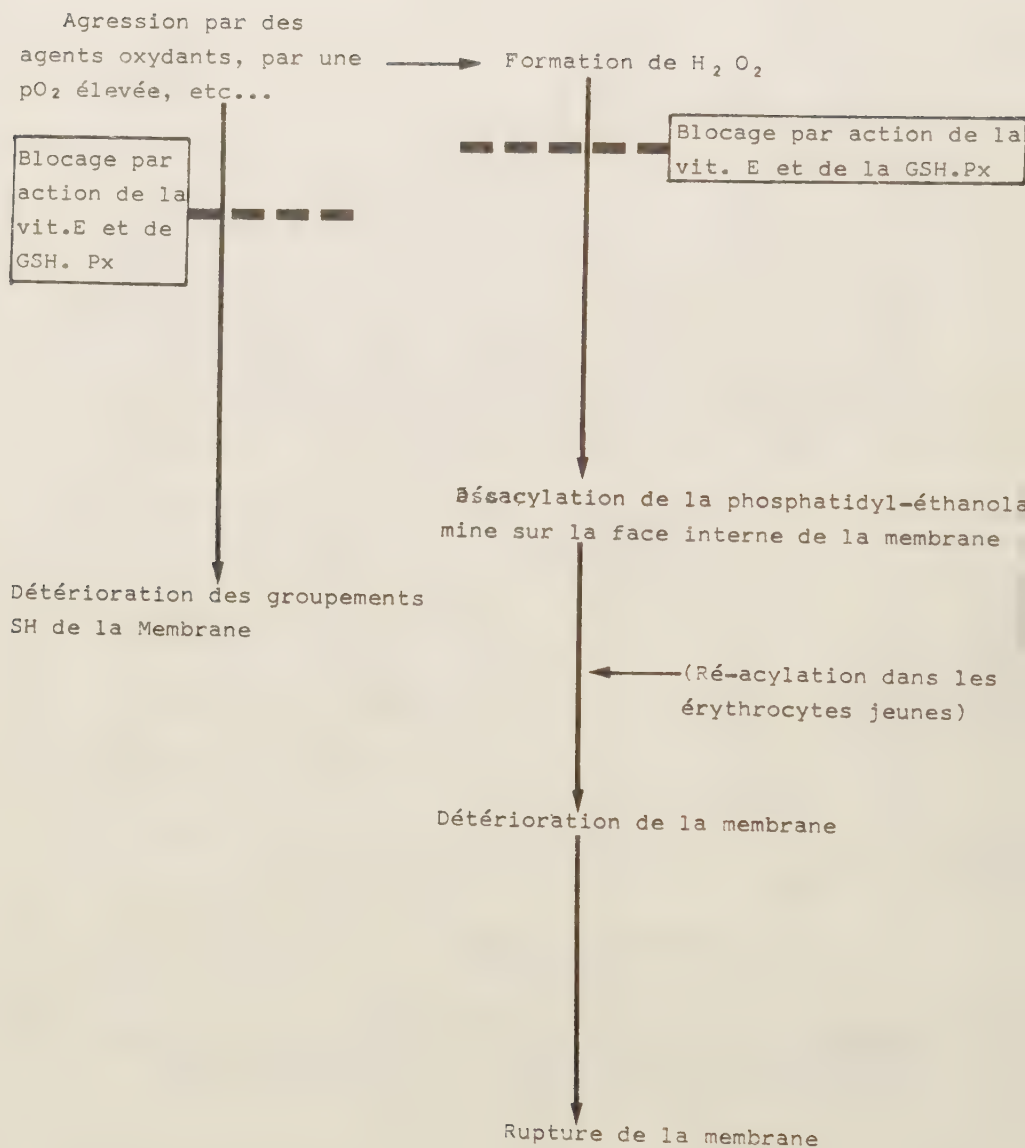


Schéma 8 : Mécanisme de l'hémolyse érythrocytaire par un peroxyde d'après JACOB et LUX (1968).

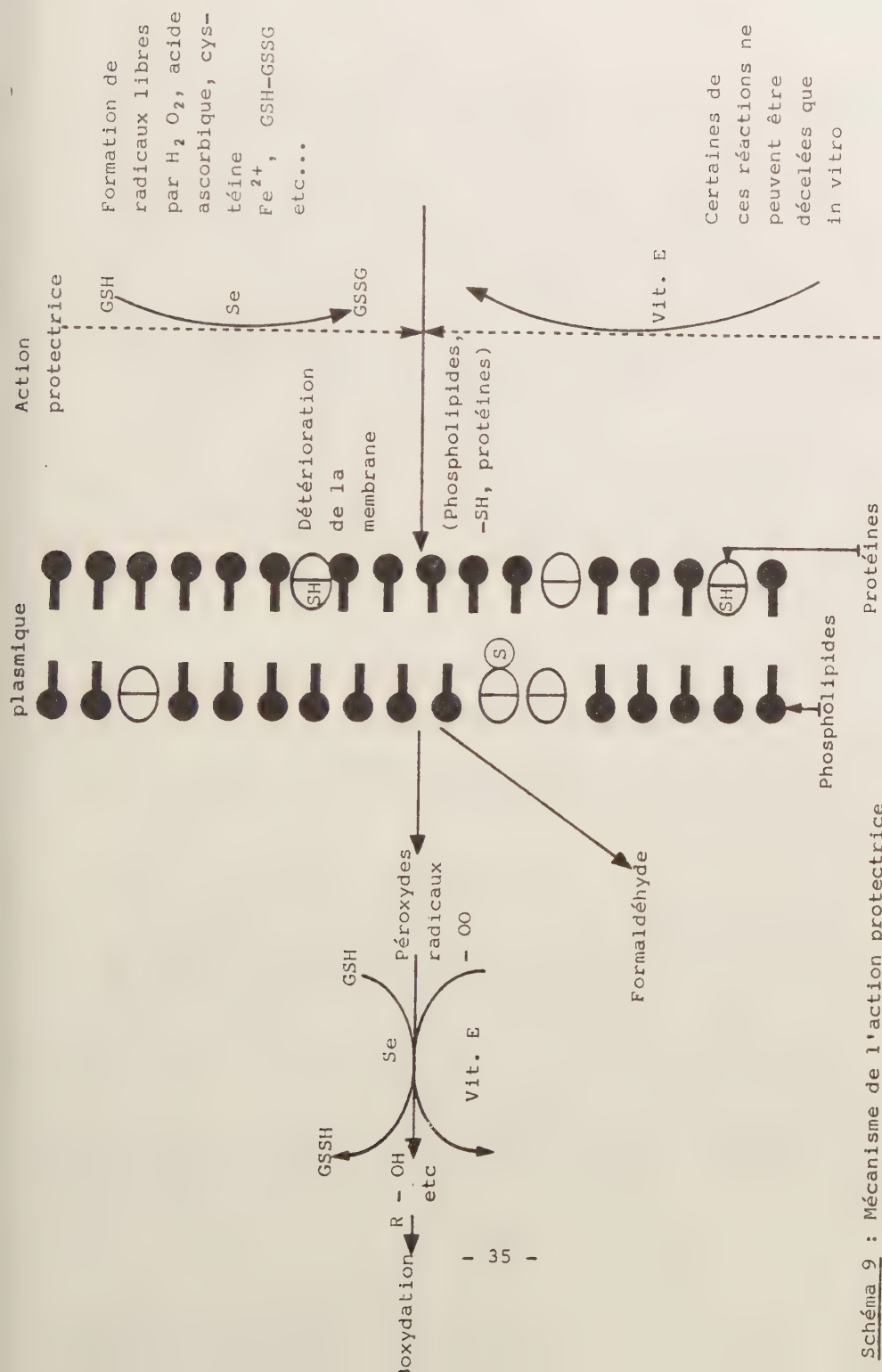


Schéma 9 : Mécanisme de l'action protectrice membranaire de la peroxydase du glutathion et de la Vit. E.

Ainsi, la GSH.Px jointe à la Vit. E empêche l'apparition de radicaux libres, et la formation de peroxydes lipidiques susceptibles d'endommager les membranes cellulaires et sub-cellulaires. Schéma 8 et 9.

LITTLE et Coll., (1968) ainsi que FLOHE, (1971) ont attiré l'attention sur les particularités suivantes de cette enzyme :

- Premièrement, la glutathion réductase présente une grande sélectivité pour le glutathion réduit (GSH), mais elle attaque aussi un grand nombre d'autres substrats.

- Secondairement, l'activité de la peroxydase du glutathion contrôle l'activité de la glutathion réductase et par suite également le rapport NADP/NADPH. De cette façon, l'activité de la GSH.Px exerce un effet considérable sur le cycle du pentose - phosphate.

L'activité de la GSH.Px serait elle même contrôlée par le système hormonal (FLOHE, 1971).

Enfin, le système glutathion peroxydase - réductase (ainsi que la vit. E) tempérerait la synthèse oxydative des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Ce fait expliquerait les activités anti inflammatoires des tocophérols (KAMIMURA et Coll., 1972 - ALVIN et Coll., 1980) et du sélénium (SCHWARTZ, 1964).

D - Répartition tissulaire - Facteurs de variation

1) Distribution tissulaire de la GSH.Px

A la différence de la peroxydase non sélénodépendante du glutathion, la GSH.Px sélénodépendante a été isolée dans la plupart des tissus chez pratiquement toutes les espèces. Tableau 12 et 13.

LAWRENCE et Coll. (1978) constatent chez le rat l'impossibilité de mettre en évidence une activité GSH.Px non Se au milieu de la rate, du coeur, du poumon, du thymus et de la muqueuse intestinale. Ces auteurs retrouvent la GSH.Px dans tous les organes, ils notent que si cette enzyme existe le plus souvent dans les érythrocytes (culot de centrifugation et sang total), sa présence est rare au niveau du plasma et même du sérum sanguin. THOMPSON et Coll., (1976) chez le porc, CAPLE et Coll., (1978) chez le cheval, ainsi que CHAUVAUX et Coll. (1977) chez les bovins, constatent une activité négligeable de la peroxydase du glutathion plasmatique. SCHOLZ et Coll., (1979) estiment que chez la vache laitière, 98 p100 de l'activité se trouve dans les érythrocytes.

Néanmoins, HYLDGAARD - JENSEN (1971) détecte chez le porc une activité plasmatique non liée à celle des érythrocytes et

fait remarquer que dans ces conditions, il n'est pas étonnant que les activités GSH.Px des érythrocytes et du sang total ne correspondent pas. CHAVEZ (1979) chez le porcelet, HAFEMAN et Coll. (1974) chez le rat, ainsi que OMAYE et TAPPEL (1974) chez le poulet confirment ces résultats. L'activité GSH.Px plasmatique peut atteindre 14 p100 de l'activité GSH.Px totale chez le lapin (LEE et Coll., 1979). L'activité GSH.Px pourrait cependant être très fugace dans le plasma (CHOW et Coll., 1974).

De ceci résulte que les meilleurs substrats sanguins pour mesurer l'activité GSH.Px sont les érythrocytes ou le sang total.

Enfin, pour une même cellule, les activités GSH.Px des membranes cellulaires et subcellulaires seraient identiques, ce qui la différencie de la GSH.Px non sélénodépendante présente uniquement dans les premières.

Espèces	Activité GSH.Px sélénodépendante U/g *	Activité GSH.Px non sélénodépendante U/g
Mouton	3,8 $\pm$ 0,9	17,6 $\pm$ 2,7
Porc	2,5 $\pm$ 0,5	6,0 $\pm$ 2,4
Poulet	1,5 $\pm$ 0,02	3,4 $\pm$ 0,2
Rat	19,6 $\pm$ 4,5	8,4 $\pm$ 1,4
Hamster	26,0 $\pm$ 2,8	19,1 $\pm$ 1,3
Homme	1,3 $\pm$ 0,32	8,4 $\pm$ 1,2

* 1 unité : Quantité d'enzyme entraînant la consommation d'une micro môle de NADPH par minute.

Tableau 12 : Activités des GSH.Px sélénodépendantes et non sélénodépendantes dans les fractions de foie de différentes espèces (d'après LAWRENCE et Coll., 1978).

Tissu	Activité GSH.Px Séléno dépendante U/mg/protéine *		Activité GSH.Px non séléno dépendante U/mg/protéine	
	Rat	Lapin	Rat	Lapin
Surrénales	278 $\pm$ 19	ND	168 $\pm$ 6	ND
Rate	270 $\pm$ 39	101 $\pm$ 12	0	ND
Foie	269 $\pm$ 49	495 $\pm$ 53	143 $\pm$ 11	363 $\pm$ 41
Coeur	225 $\pm$ 32	79 $\pm$ 14	0	ND
Poumon	171 $\pm$ 29	127 $\pm$ 20	0	ND
Rein	146 $\pm$ 16	202 $\pm$ 30	66 $\pm$ 11	137 $\pm$ 42
Thymus	118 $\pm$ 10	ND	0	ND
Graisse	53 $\pm$ 9	ND	15 $\pm$ 2	ND
Cerveau	33 $\pm$ 1	ND	12 $\pm$ 2	ND
Muqueuse intestinale	30 $\pm$ 3	ND	0	ND
Testicule	6 $\pm$ 4	ND	62 $\pm$ 5	ND
Erythrocytes	ND	48 $\pm$ 8	ND	ND
Plasma	ND	7 $\pm$ 0,7	ND	ND

* 1 unité : Quantité d'enzyme entraînant la consommation d'un micromole de NADPH par minute.

Tableau 13 : Activité des GSH.Px séléno dépendantes et non séléno dépendantes dans les tissus du rat (LAWRENCE et Coll., 1978) et du lapin (LEE et Coll., 1979).

2) Facteurs de variation

Ainsi que nous l'avons remarqué précédemment, l'activité de la peroxydase du glutathion varie très largement avec le tissu étudié et l'espèce considérée.

JORGENSEN et Coll., (1977) cités par HYLDGAARD - JENSEN (1977) démontrent l'influence de l'origine génétique sur l'activité

GSH.Px.

En outre, l'activité GSH.Px dans le sang ou le plasma varie avec le sexe (HAFEMAN et Coll., 1976) et l'âge (HAFEMAN et Coll., 1976 - HYLDGAARD - JENSEN, 1977).
Tableau 14.

Age jours)	Nombre d'animaux	Erythrocytes (UI/g Hb)	p.100 de l'activité initiale	Plasma (U/l)	p.100 de l'activité initiale
2	4	66 $\pm$ 12		482 $\pm$ 83	
34	11	87 $\pm$ 23	130	1316 $\pm$ 397	273
90	14	80 $\pm$ 25	121	1685 $\pm$ 355	340
118	5	102 $\pm$ 25	155	1796 $\pm$ 475	372
195	6	96 $\pm$ 30	145	2387 $\pm$ 900	494

Tableau 14 : Variation d'activité de la GSH.Px érythrocytaire et plasmatique chez le porc (d'après HYLDGAARD - JENSEN, 1977).

LE CHU SU, (1979) note chez la souris que si l'activité GSH.Px tissulaire augmente avec l'âge, cet accroissement est néanmoins fonction de la teneur en vit. E/Se dans la ration.

Ainsi, un des principaux facteurs de variation est sans nul doute le régime alimentaire :

- Une ration déficiente en sélénium provoque une diminution d'activité de la peroxydase du glutathion dans différents tissus (foie, rein, coeur, poumons, plasma, érythrocytes et testicules) chez le rat, à l'inverse, elle entraîne une augmentation après supplémentation. (ROTRUCK et Coll., 1972 - CHOW et Coll., 1974). SIVERTSEN et Coll., (1977) - CHAVEZ, (1979) chez le porc ; CAPLE et Coll., (1978) chez le cheval ; OH et Coll., (1978) chez le mouton ; ALLEN et Coll., (1975) - HOFFMAN et Coll., (1978) - ARTHUR et Coll., (1979) chez la vache obtiennent des résultats analogues. Ces derniers auteurs relient même la carence en sélénium du sol à l'activité GSH.Px des érythrocytes.

Néanmoins, au moins chez le rat, l'élévation de l'activité érythrocytaire de la GSH.Px ne semble intervenir qu'après un certain temps de latence et lorsque les apports de sélénium sont égaux ou supérieurs à 0,1 ppm (HAFEMAN et Coll., 1976). La relation entre l'activité GSH.Px et les apports alimentaires de sélénium serait de nature logarithmique (OMAYE et TAPPEL, 1974) ; cette relation ne semble pas être vérifiée chez l'agneau,

l'activité GSH.Px tendant à plafonner lorsque la fourniture en sélénium devient assez importante (OH et Coll., 1976).

- La tocophérolémie ne semble pas en rapport avec l'activité GSH.Px. Une supplémentation alimentaire en Vit. E n'entraîne pas de variation du taux de cette enzyme (HAFEMAN et Coll., 1974 - SCOTT et Coll., 1976 - SILVERSTEN et Coll., 1977 - WHANGER et Coll., 1977 - CHAVEZ, 1979).

Quelques autres facteurs alimentaires peuvent influencer sur l'activité GSH.Px :

- Si l'adjonction d'acides gras insaturés au régime alimentaire est suivie d'une réponse inconstante de l'activité de la GSH.Px (REDDY et Coll., 1974 - SILERSTEN et Coll., 1977), les acides gras essentiels influent notablement. Ainsi chez le rat, la déficience en AGE entraîne une diminution significative de l'activité GSH.Px (GUNDE - EGESKOV - JENSEN et Coll., 1981).

- Les acides aminés soufrés diminuent les besoins en vit. E et en sélénium (FERANDO, 1971) puisqu'ils sont précurseurs du glutathion dans la GSH.Px. A ce titre, ils peuvent faire varier la teneur en cette enzyme.

- La carence en Fer entraîne une décroissance significative de l'activité GSH.Px séléno dépendante dans les globules rouges et dans le foie. Inversement, la GSH.Px non séléno dépendante mesurée dans le foie augmente lors de carence en Fer (YOUNG et Coll., 1981).

- L'absence de riboflavine (vit. B₂) dans la ration entraîne chez le porcelet une baisse de l'activité de la GSH.Px hépatique et diminue la concentration du foie en sélénium. Cette baisse d'activité n'est pas observée dans le sang, alors que la réponse GSH.Px est variable au niveau du muscle (BRADY et Coll., 1979).

- L'acide ascorbique (vit. C) entraîne une augmentation des activités de la GSH.Px dans le plasma en favorisant l'absorption intestinale du sélénium (COMBS G.F et Coll., 1976).

- Enfin, l'éthoxyquine est efficace pour favoriser des accroissements du taux plasmatique de la GSH.Px. (Cet antioxydant de synthèse permet ainsi une épargne du besoin en sélénium chez des poulets carencés en vit. E) (COMBS et Coll., 1978).

Il résulte parmi les nombreux facteurs de variation cités ci-dessus, que l'administration de sélénium soit dans la ration, soit par injection (LITTLE et Coll., 1979) est l'élément le plus influent sur l'activité de la peroxydase du glutathion.

E - Intérêt clinique de la mesure de l'activité GSH.Px

Sachant comme nous l'avons vu précédemment que la peroxydase du glutathion réagit d'une façon sensible aux variations du métabolisme, son activité pourrait peut être servir de paramètre pour déterminer les besoins de l'organisme en vit. E et/ou Se

(CHOW et Coll., 1972 - CHOW et Coll., 1973). D'où l'intérêt sémiologique que l'on porte à cette enzyme.

1) Liaison entre l'activité GSH.Px du sang et la sélénémie

Il existerait une relation linéaire, moins étroite chez le porc que chez la vache ou les ovins entre l'activité GSH.Px sanguine mesurée dans les érythrocytes ou dans le sang total et la sélénémie mesurée dans le sang total (THOMPSON et Coll. 1976). Tableau 15 a et 15 b.

Cependant, pour les sélénémies très basses ($\approx 10 \mu\text{g/l}$) cette relation devient imprécise (CHAUVAUX et Coll., 1967).

2) Intérêt de la mesure de la GSH.Px dans les affections résultant d'une carence en Se

Après avoir noté les rapports biodynamiques entre la concentration en sélénium dans le sang et l'activité GSH.Px dans le plasma chez le porc, CHAVEZ en 1979 montre que la GSH.Px plasmatique utilisée comme mesure directe du sélénium fonctionnel est aussi très sensible au taux d'ingestion de cet élément. Pour cet auteur, la GSH.Px plasmatique est une méthode rapide, simple et sûre d'évaluer "le degré de suffisance temporaire des apports de Se par les aliments".

Il est donc permis d'évoquer, ainsi que l'ont fait NOGUCHI et Coll. en 1973 - CHAVEZ en 1979, les possibilités d'apprécier le niveau de couverture des besoins en Se par la mesure de l'activité de la GSH.Px. De plus, cette mesure pourra préciser le diagnostic d'une affection résultant de la carence en sélénium. Ainsi, chez des moutons myodystrophiques, WHANGER et Coll. (1977) notent une augmentation des activités plasmatiques des enzymes AspAT, LDH et CK ; quand le trouble expérimental n'est pas lié à une carence en sélénium, les valeurs de l'activité GSH.Px et de la sélénémie sont inchangées, alors que lorsque la maladie résulte d'une carence en sélénium, ces paramètres sont abaissés de façon importante.

Ces résultats sont en accord avec ceux de ALLEN et Coll. (1975), CAPLE et Coll. (1978) et DOTTA et Coll. (1978).

De cela, il ressort que la mesure de l'activité GSH.Px pourrait constituer d'une part un élément diagnostique appréciable d'une carence en sélénium, d'autre part un moyen de dépistage des affections liées à cette même carence, en rendant compte du niveau de couverture en sélénium alimentaire.

Espèces	Résultats des études de régression							Références
	Substrats	n	Equation de régression	Coeffic. = $\frac{b}{VF} \cdot$ correla.	$\frac{b}{VF} \cdot$	sélénémie sang total $\mu\text{g/l}$		
						+ faible valeur	+ forte valeur	
Vaches	sang total	58	-	0,57	-	9	72	THOMPSON et Coll. 1976
	sang total	99	$y = 35,2x - 4,32$	0,8309	-	5	66	CHAUVAUX - LOMBA, 1977
	érythrocytes	-	-	0,912	-	20	75	ALLENN et Coll. 1975
	érythrocytes	94	$y = 6,69x + 2,08$	-	0,560	13	192	WILSON et Coll. 1976
	érythrocytes	191	$y = 296,8x - 7,257$	-	-	-	-	ANDERSON et Coll. 1978
	érythrocytes	146	$y = 260,7x - 0,55$	0,958	-	20	32	SCHOLZ et Coll. 1979
aitières	érythrocytes	668	$y = 11,8936x - 189,6059$	0,9836	-	20	250	GUNNAR .. CARLSTROM et Coll. 1979

* F = Rapport de la variance due à la régression sur la variance à l'erreur
= écart type sur le coefficient de pente de la droite.

Tableau 15a : Analyse bibliographique de la relation activité de la peroxydase du glutathion-sélénémie chez la vache laitière ($y = bx + A$; y = activité GSH.Px ; x = Se).

Espèces	Résultats des études de régression						Références	
	Substrats	n	Equation de régression	Coeff. Correl.	$r = \frac{b}{VF}$	Sélinémie sang total µg/l		
						+ faible valeur		+ forte valeur
Ovins	sang total	54	$y = 206,6x + 3,09$	0,939	-	0,03	0,40	
	sang total	44	-	0,92	-	133	249	
	érythrocytes	80	$y = 9,74x + 1,98$	-	0,397	8	316	
Cheval	érythrocytes	10	-	0,98	-	16	197	
Porc	sang total	31	-	0,27	-	93	193	
	sérum sang.	223	$y = 0,19x + 1,87$	0,956	-	10	130	
Poulet	relation linéaire ($z = 0,917$) entre les apports alimentaires de sélénium et l'activité GSH.Px des érythrocytes.						OMAYE et TAPPEL, 1974	
Rat	relation linéaire entre les apports alimentaires de sélénium et l'activité GSH.Px des érythrocytes.						HAFEMAN et Coll. 1974	

Tableau 15 b : Analyse bibliographique de la relation activité de la peroxydase du glutathion - sélénémie chez le mouton, le cheval, le porc, le poulet et le rat.

CONCLUSION

La détermination des taux sériques d'une seule enzyme "majeure" est insuffisante pour le diagnostic d'une carence en vit. E et/ou Se.

Il est possible de concevoir alors, qu'un profil enzymatique puisse s'organiser autour de quelques enzymes musculaires (ALD, LDH, GOT, GPK, CK) pour détecter "les lésions biochimiques" avant même que les manifestations pathologiques n'apparaissent. Parallèlement, la mesure de l'activité de la peroxydase du glutathion, enzyme sélénio dépendante, semble constituer un élément diagnostique intéressant lors de la carence en vit. E et/ou Se ; en outre, elle permet d'entrevoir des perspectives prophylactiques par dépistage des animaux subcarencés en sélénium.

Cependant, le crédit que l'on peut donner à ces investigations enzymatiques dépend beaucoup de la qualité de l'interprétation que l'on peut faire des résultats de ces dosages. Les caractéristiques biologiques de ces enzymes, les caractéristiques techniques des méthodes de dosage, ainsi que l'analyse statistique des résultats constituent un trépied indispensable sans lequel l'intérêt de l'étude ne peut être correct.

2ème partie : MODIFICATIONS DU PROFIL ENZYMATIQUE SANGUIN LIEES A
UNE SUBCARENCE EN SELENIUM CHEZ LA VACHE ALLAITANTE
CHAROLLAISE - ETUDE EXPERIMENTALE.

I - HYPOTHESE D'ETUDE

Sur le terrain, la subcarence en sélénium est plus fréquente que la carence vraie. De plus, les modifications biochimiques de l'état de subcarence chez les bovins sont encore mal connues. Ainsi, nous tenterons de rechercher les tests qui, dans le cas du sélénium permettent d'estimer l'état plus ou moins subcarentiel d'une vache allaitante charollaise.

Dans un précédent travail réalisé au Laboratoire de Nutrition et d'Alimentation à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, il avait été montré :

- le manque relatif du dosage du sélénium plasmatique,
- la relation entre l'activité globulaire de la peroxydase du glutathion (GSH-Px) mesurée dans le culot de centrifugation et le sélénium plasmatique. Les résultats des mesures de l'activité de la GSH-Px dans le sang total et le plasma s'étant révélées plus discutable du fait peut être d'un "masquage" de la réaction par un constituant plasmatique encore inconnu,
- une baisse du taux de sélénium plasmatique et de l'activité de la GSH-Px dans le culot allait de paire avec l'augmentation de l'activité Aspartatase (AspAT) et une diminution de l'activité CK qui n'avait pu être ni vérifiée, ni interprétée. (F. GENIN - R. WOLTER, 1979).

Dans le but d'infirmier ou de confirmer ces résultats, nous nous proposons de refaire un essai portant sur un plus grand nombre d'animaux, en nous fixant comme objectif d'étude :

- la relation entre le sélénium alimentaire, le sélénium sanguin, la GSH-Px du culot de centrifugation et la GSH-Px du sang total,
- les variations d'activité d'autres enzymes habituellement considérées comme témoins d'une lésion cellulaire, notamment musculaire : l'Aspartate aminotransférase (AspAT), l'Alanine aminotransférase (AlAT), la créatine kinase (CK), l'aldolase (ALD), la lacticoxydéshydrogénase (LDH) et ses 5 isoenzymes,
- l'expression des résultats en fonction de la masse musculaire. A cet égard, en médecine humaine on insiste sur l'importance du choix d'un mode d'expression de l'activité enzymatique pour l'interprétation des résultats. Ainsi par exemple, "si l'on est intéressé par l'activité musculaire c'est à cet organe entier qu'il convient de rapporter l'activité enzymatique". De plus, l'intensité du métabolisme musculaire et par là même des activités enzymatiques ne semble pas proportionnelle au poids vif, mais d'avantage à la masse maigre. (TERROINE, 1964). Pour vérifier cela, nous nous proposons dans ce travail, de comparer les activités enzymatiques ramenées aux poids vifs (PV), poids carcasse (PC), poids de viande commercialisable (VIAN) et masse maigre (MM). Ainsi, nous réaliserons au préalable une étude baryométrique sur chaque animal considéré.

II - PROTOCOLE EXPERIMENTAL

A - Choix des animaux

Six élevages de vaches allaitantes charollaises, désignés 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6, des départements de la Saône et Loire et de la Loire ont été retenus pour ce travail. Dans un précédant essai (GENIN, 1979) effectué sur trois de ces six élevages, il avait été montré que les animaux de l'élevage 1 étaient carencés en sélénium, depuis une large supplémentation en Se avait été apporté.

Par ailleurs, "les commémoratifs cliniques" révèlent une subcarence en Se dans l'élevage 2 (Myopathie dyspnée). Les caractéristiques zootechniques et alimentaires de chacun des 6 élevages sont consignées dans le tableau 16.

Les mesures baryométriques ainsi que les prélèvements sanguins ont été effectués durant le mois de janvier 1980, dans chaque élevage, sur 10 vaches allaitantes ou génisses primipares ayant toutes 7 mois de gestation.

B - Barymétrie

Nous avons tenté de déterminer le plus objectivement possible la mesure du poids vif (PV), du poids carcasse (PC), du poids de viande commercialisable (VIAN) et de la masse maigre (MM).

1) Méthode d'appréciation du poids vif des bovins par barymétrie

L'estimation du PV s'est appuyée sur l'utilisation d'un ruban zoométrique type "schwartz" avec lequel il est possible de prendre la mesure du tour droit de poitrine. Au dos de l'échelle centimétrique se trouve un intervalle de poids correspondant. Ce poids est à moduler en fonction de l'âge, de l'état d'engraissement et de la conformation, sachant que la valeur obtenue concerne un animal "zootechniquement parfait" et qu'elle sera trop élevée si celui-ci est gras, vieux (puisque les masses musculaires sont moins importantes), mal conformé, qu'elle sera trop faible chez un animal maigre, jeune, allongé ou bien conformé.

La mesure du tour droit de poitrine (TP) fait abstraction de l'état de réplétion du tube digestif et de l'état de gestation de la vache allaitante (TP = constante, quelque soit l'état physiologique de l'animal).

2) Détermination du poids carcasse (PC)

Nous avons estimé la conformation de chaque animal sur la base de référence du catalogue officiel de classement des bovins adultes adaptée par l'ONIBEV (Grille EUROPA).

Après avoir déterminé l'engraissement des vaches étudiées, nous avons déduit leur rendement carcasse sachant qu'il a pour valeurs extrêmes 42 et 58 % avec des valeurs courantes allant

de 45 à 55 %.

Connaissant le PV et le rendement carcasse de chaque vache, nous en avons déduit leur poids carcasse.

$$PC = Rdt. C \times PV$$

3) Estimation du rendement viande : Détermination du poids de viande commercialisable (VIAN)

L'estimation du "rendement viande" est modulé par la conformation et l'état d'engraissement de l'animal. Une table ITEB permet d'obtenir le rendement viande approximatif des vaches allaitantes charollaises.

Connaissant le poids carcasse ainsi que le rendement viande, nous avons calculé le poids de viande commercialisable.

$$VIAN = PC \times Rdt. viande$$

4) Appréciation de la masse maigre (MM)

De même que VON DOBELN, (1959) - PASCALE, (1956) - FLECHTER (1962) et FRANCOIS, (1966) cités par BOTTIN, (1977) chez l'homme ; nous avons tenté dans le cadre de cette étude de déterminer la masse maigre des bovins par la mensuration des plis cutanés pris en des endroits précis à l'aide d'un compas du type "Harpender Caliper", ainsi que celle des rayons osseux à l'aide d'un pied à coulisse.

v	PV kg	r a t i o n						
		Besoins • • recommandés		Composants caractéristiques	Niveau alim. prat.			
		UFL ^o	MAD ^o (g)		UF	MAD	Se	SS
		1,4+0,6 PV 100	60/100kg + 60		(g)	(g)	(10 ⁻⁴ g)	(g)
1	683	5,5	470	- ensilage maïs - foin PN 1er cycle - paille d'orge - drèche brasserie enrichie - CMV 20/10	5,7	430	27	13
2	599	5	419	- foin PN 1er cycle - paille d'orge	2,5	200	1,1	7,4
3	679	5,4	467	- ensilage maïs - ensilage Ray grass - foin PN 1er cycle - tourteau soja-arachide - paille d'orge - CMV 20/10	5,5	350	7,1	11,1
4	777	6,1	526	- ensilage maïs - foin PN 1er cycle - CMV 10/10	8,4	434	3,9	13,9
5	662	5,3	457	- ensilage d'herbe - foin PN 1er cycle - paille d'orge - CMV	6	240	16,6	15,3
6	641	5,2	445	- ensilage d'herbe - tourteau soja 50 - paille d'orge - CMV	5,1	350	19	14

• PV : Poids vif moyen reflet du format des animaux dans les 6 élevages.

• • : Besoins alimentaires recommandés au 7ème mois de gestation/Al/jour.

UFL^o : $1,4 + 0,6 \frac{PV}{100}$; MAD^o : 60/100 kg + 60

Tableau 16 : Rationnement et format des animaux des 6 élevages étudiés.

C - Prélèvements sanguins

- Les prélèvements sanguins ont été effectués à la veine jugulaire, dans 5 tubes en plastique héparinés (héparinate de lithium) de 10 ml (type starsted monovette, réf. 920* Lli), à l'aide d'une aiguille inox différente pour chaque animal. Le tube est ensuite bouché, renversé plusieurs fois (sans l'agiter pour homogénéiser son contenu et placé immédiatement dans la glace fondante.

- Traitement des échantillons à la ferme

+ schéma 10

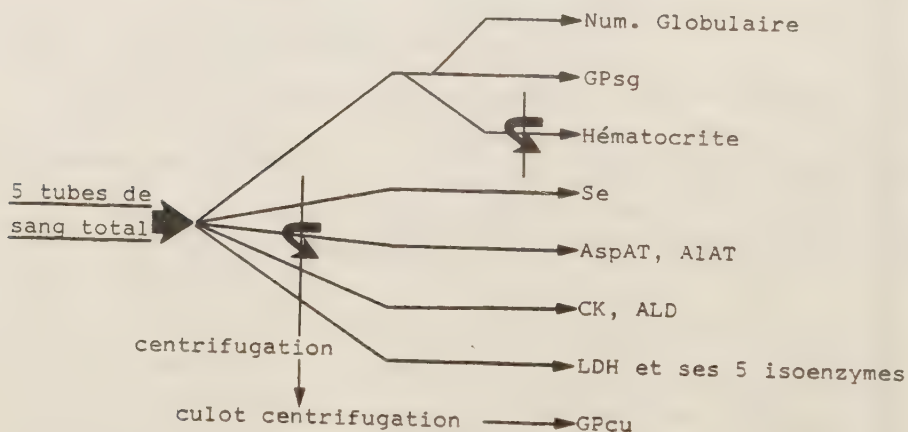


schéma 10 : traitement des échantillons à la ferme.

+ prélèvement pour numération globulaire

10 μ l de sang total sont prélevés à l'aide du dispositif Unopette (B. D. France) et dilués au 1/200 dans du sérum physiologique.

+ mesure de l'hématocrite (microhématocrite)

Un prélèvement de sang total dans des microtubes héparinés (héparinate d'ammonium) est centrifugé 20 mn à 3 000 t/mn. L'hématocrite est ensuite mesuré.

+ isolement du plasma

Après centrifugation (10 mn à 3 000 t/mn) des tubes de sang total, dans la demi heure suivant la récolte, le plasma est prélevé dans un tube (Starsted. réf. 70145 F).

+ "lavage" du culot de centrifugation

Les hématies séparées du plasma sont reprises par du sérum physiologique ; la suspension est refroidie dans la glace fondante puis centrifugée à nouveau. Le surnageant est alors prélevé et rejeté. Les opérations sont renouvelées trois fois

consécutives. A la fin, le tube est rempli de sérum physiologique en veillant à ce que le niveau terminal de la suspension soit identique au niveau initial du sang prélevé.

- Transport de l'ensemble des échantillons dans la glace jusqu'au Laboratoire où ils sont congelés.

D - Techniques de dosages

Les mesures effectuées sont :

- Hématocrites (%)
- Numération globulaire ($\bar{M}$ / ml)
- Sélénium plasmatique (g/l) et alimentaire (g/kg)
- Activités :
 - + Aspartate aminotransférase plasmatique (UI/l)
 - + Alanine aminotransférase plasmatique (UI/l)
 - + Créatine kinase plasmatique (UI/l)
 - + Aldolase plasmatique (UI/l)
 - + Lactico-deshydrogénase plasmatique (UI/l) et ses 5 Isoenzymes (%)
 - + Péroxydase du glutathion mesurée dans le sang total et le culot de centrifugation (UI/l)

1) Le dosage du Sélénium

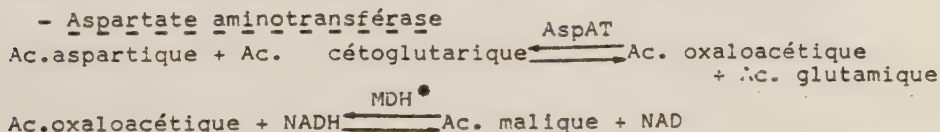
- Le dosage du sélénium a été effectué par le Laboratoire de M. LAMAND* selon la méthode de WATKINSON (1966) modifiée par LAMAND (1969)

- Cette technique nécessite l'emploi d'un personnel et d'un matériel très spécialisés : le plasma préalablement lyophilisé (augmente la concentration en Se) puis minéralisé par voie humide est traité par le 2 - 3 diamino-naphtalène. Il se forme alors un piassélénole de diamino-naphtalène dont on mesure la fluorescence (le piassélénole de diamino-naphtalène est excitable à une longueur d'onde de 366 nm et il émet alors une fluorescence dont le maximum se situe à la longueur d'onde de 250 à 530 nm).

2) Les mesures de l'activité de l'aspartate aminotransférase et de l'alanine aminotransférase ont été analysées sur auto-analyseur technique AAT.

- Sous l'effet de l'enzyme et en présence d'acide acéto-glutarique, il se produit une transamination avec formation d'un acéto-acide susceptible, en présence d'une deshydrogénase d'oxyder le NADH. On mesure la diminution d'absorption du NADH au spectrophotomètre à 340 nm.

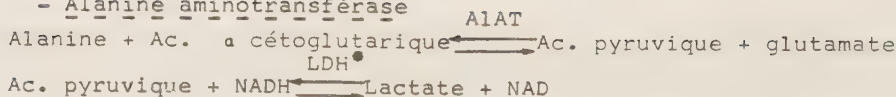
Les réactions étudiées en photométrie sont résumées ainsi :



*MDH : malate deshydrogénase

Dr-Vre LAMAND, Laboratoire des Maladies nutritionnelles - INRA - CRZV de Theix.

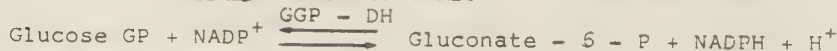
- Alanine aminotransférase



• LDH : Lactico deshydrogénase

3) L'activité plasmatique de la créatine kinase a été mesurée dans un Laboratoire de Biochimie privé selon la méthode "CK NAC activité UV system 10" (Boehringer ND)

- La réaction est schématisée ainsi :



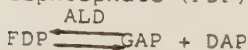
La conversion du NADPH en NADP est suivie au spectrophotomètre à 340 nm.

4) Mesure de l'activité de l'aldolase (ALD) : méthode spectrophotométrique

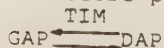
Nous avons mis au point et réalisé cette mesure au Laboratoire de Nutrition et d'Alimentation de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon selon la méthode BEISENHERG et Coll. (1953).

a - Principe

- L'aldolase catalyse la réaction de scission du fructose 1-6 diphosphate (FDP)

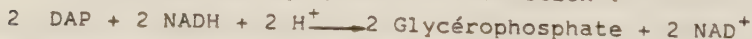


Les deux trioses phosphates produits de la réaction : Glycérine Aldéhyde - Phosphate (GAP) et Phosphodioxyacétone (DAP) sont dans un état d'équilibre dont la réalisation est catalysée par la triose phosphate isomérase (TIM)



En présence d'un excès de TIM, cet équilibre s'établit spontanément à 96 % en faveur de la formation de DAP.

- Le DAP est réduit par le NADH en présence de la deshydrogénase phosphoglycérique, selon la réaction :



- La réaction d'ensemble est donc :



- On mesure la conversion du NADH qui est proportionnelle à la quantité de FDP scindé pendant la réaction.

b - Appareillage

- Pipettes automatiques Eppendorf (P10 - P50 - P200)

- Spectrophotomètre Beckmann ("UV 24")

c - Réactifs

1) Tampon / Substrat

- + Tampon collidine : 56 mmol/l, pH 7,4
- + Monoiodacétate : 0,3 mmol/l
- + FDP : 3 mmol/l
- 2) NADH : 20 mmol/l
- 3) GDH : 65 U/ml
- TIM : 440 U/ml
- LDH : 200 U/ml
- 4) Sérum salé à 9_{p100}

d - Préparation de l'échantillon

Nous travaillons sur sérum et non sur plasma. En effet, les érythrocytes sont riches en ALD, ce qui fausse quelque peu les résultats: L'ALD serait libérée des érythrocytes voire des thrombocytes lors de la coagulation. Une première expérimentation ayant montré des variations d'extinction ΔE supérieure à 0,500 ; nous avons été obligé de diluer nos sérums au dixième à l'aide de solution physiologique de chlorure de sodium.

e - Mode opératoire - réaction proprement dite

- Les réactifs 1) et 2) sont dissous respectivement dans 100 ml et 2 ml d'eau permutée bidistillée. Le réactif 3) est utilisé tel quel.

- Nous travaillons avec des cuves de 1 cm d'épaisseur, la température étant de 37° c, la longueur d'onde de 340 nm. Nous mesurons la diminution d'extinction contre témoin, pour chaque essai nous préparons un témoin. Tableau 17.

	Cuves	
	Témoin	Essai
Solution 1)	—	2,50 ml
Solution 4)	2,50 ml	—
Solution 2)	—	0,05 ml
Solution 3)	—	0,01 ml
Echantillon	0,20 ml	0,20 ml

Tableau 11 : Réactifs utilisés pour le témoin et l'essai.

- Après avoir placé les cuves environ 5 mn au bain-marie à 37° c, nous lisons l'extinction E_1 contre le témoin. Puis nous replaçons les cuves au bain-marie (37° c) et mesurons exactement 20 mn après l'extinction E_2 . $\Delta E = E_1 - E_2$ est le reflet de la diminution de l'absorbance à 340 nm due à la conversion de NADH en NAD^+ .

+ La valeur de l'activité de l'aldolase dans l'échantillon analysé est exprimée en U/l à 37° c.

+ La lecture à 340 nm tient compte d'un coefficient de correction.

U/l (37° c) = 54,8 x ΔE 340 nm.

+ Nous tenons compte également de la dilution effectuée préalablement : Tous les résultats sont multipliés par 10.

+ Enfin, nous exprimons comme nous le faisons pour les autres enzymes étudiées, les valeurs de l'activité de l'ALD à 25° c, d'où le nouveau facteur de correction.

U/l (25° c) = 0,41 x U/l (37° c)

- Soit :

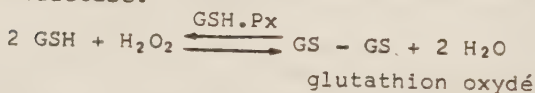
ALD V/l (25° c) = 10 x 54,8 x 0,41 x ΔE 340 nm.

- Remarquons qu'il existe des tables de conversions exprimant l'ALD en unité Bruns - unité Bücher - unité Wroblewsky - unité Amelung.

5) Mesure de l'activité de la peroxydase du glutathion

Nous avons également réalisé la mesure de l'activité de la peroxydase du glutathion au Laboratoire de Nutrition et d'Alimentation de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon suivant la méthode de PLAGIA et VALENTINE, (1967) et selon le protocole décrit par GENIN, (1979).

La peroxydase du glutathion catalyse l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) du glutathion réduit en glutathion oxydé qui réagit lui-même avec NADPH en présence de glutathion réductase.



*GSH-Red : glutathion réductase.

La conversion du NADPH en NADP est suivie par une diminution de l'absorbance à 340 nm.

L'unité d'activité enzymatique est définie comme le nombre de moles de NADH oxydées par minute et est calculé sur la base d'une absorption molaire de NADPH à 340 nm de 6,22.10⁻⁶.
Les résultats sont exprimés en UI/l.

- GPcu = 1 UI/l correspond au nombre de moles de NADPH oxydées par minute dans un litre d'une suspension contenant 3.10¹² hématies.

- GPsg = 1 UI/l correspond au nombre de moles de NADPH oxydées par minute dans 1 litre d'une suspension contenant un volume de sang total correspondant à 3.10¹² hématies.

6) Mesure de l'activité plasmatique de la Lactico-deshydrogénase et de ses 5 isoenzymes

Ce dosage a été effectué dans le Laboratoire de Physiologie de la faculté de médecine de Lyon.

a - La détermination de l'activité de la LDH totale repose :

- soit sur une méthode spectrophotométrique mesurant :
ou bien la diminution de D.O. à 340 nm en présence de substrat
acide pyruvique et NADH,

ou bien l'augmentation de D.O. à 340 nm en présence de sub-
strat acide lactique et de NAD^+

- soit sur une méthode colorimétrique avec :

+ un substrat acide lactique puis dosage de l'acide pyruvique
formé (coloration par la dinitrophénylhydrazine) ou encore
dosage de NADH formé par réduction d'un sel de tétrazolium par
NADH formé par réduction d'un sel de tétrazolium par NADH avec
le méthosulfate de phénazine: coloration rouge violacée (BABSON
et NACHLOS).

Dans le cadre de notre étude, le dosage enzymatique de la LDH
totale est réalisée à l'aide des troussees "Biozymopack B.P.
408" de BIOTROL pour 30 déterminations. Le dosage se fait sur
50 μl de plasma.

b - Séparation des isoenzymes

- Une électrophorèse est pratiquée sur bande d'acétate de
cellulose gélifié (CellogeI, chemotron, milan, représenté par
Spetelec) dans un tampon de Ducrum pH 8,6 ; 0,056 M.
Différence de potentiel 400 volts pendant une heure sur 10 μl
de sérum.

- Révélation des isoenzymes :

Le réactif suivant est préparé extemporanément (pour 2 à 10
buvards) :

+ 20 mg de β DPN (SIGMA)

+ 6 mg de MTT tétrazolium (SIGMA)

+ 0,6 mg de phénazine méthosulfate (SIGMA)

+ 8,3 ml d'eau bidistillée.

Ce mélange est utilisé pour imbiber des rectangles de papier
filtre (Whatman N° 1) de même largeur que les bandes de cello-
gel, et de 8 centimètres de long.

On dispose sur chaque bande de cellogel, encore placée dans la
cuve à électrophorèse, une bande de papier filtre imbibée, en
chassant soigneusement toute bulle.

On replace le couvercle de la cuve pour maintenir l'atmosphère
humide.

Après 20' à 30', les bandes de cellogel sont recueillies et
plongées dans une solution constituée de :

{ + formol 4 % dans NaCl 9 $\frac{9}{100}$ → 1 volume

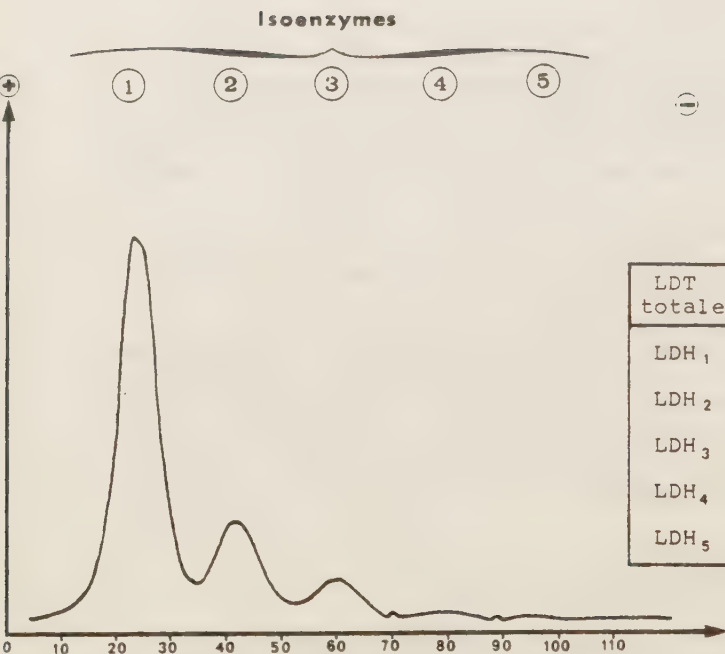
{ + eau bidistillée → 5 volumes

La conservation est satisfaisante pendant une semaine.

La lecture densitométrique permet de quantifier les pourcenta-
ges des 5 isoenzymes. Schéma 8

- Le dosage conduit précédemment l'était sur du plasma
congelé, nous avons recherché par une étude conjointe quel
était l'impact de la congélation sur la LDH plasmatique et ses
isoenzymes.

- Nous avons ainsi réalisé à la même époque l'année sui-
vante et sur un échantillon de 10 vaches allaitantes charollai-
ses, le plus homogène possible à ceux étudiés dans notre essai,
des prélèvements sanguins.



LDT totale	1220 UI/l
LDH ₁	71 %
LDH ₂	19 %
LDH ₃	8 %
LDH ₄	2 %
LDH ₅	0 %

Schéma 8 : Résultats de l'analyse densitométrique de l'échantillon prélevé sur la vache 501.

Les taux en LDH totale obtenus sur plasma frais sont légèrement supérieurs à ceux obtenus sur plasma congelé.

Par ailleurs, nous avons pu constater une augmentation significative des pourcentages des isoenzymes LDH₂ - LDH₃ - LDH₄ - LDH₅ aux dépens de la LDH₁ - Tableau 18

- Cette variation relativement importante peut être attribuée effectivement à un effet de la congélation, mais rien ne prouve qu'il n'intervienne pas le facteur "Echantillonnage" il eu été intéressant au moment des prélèvements de notre essai de faire un échantillon "témoin frais", mais ceci nous était matériellement pas possible.

Variables	$\bar{X}$ Essai congelé	$\bar{X}$ Témoins frais	Variation %
LDH totale UV/l	1136,6	1490	24
LDH ₁ %	70,36	57,4	23
LDH ₂ %	21,66	24,6	12
LDH ₃ %	6,5	10,7	39
LDH ₄ %	1,46	5,5	73
LDH ₅ %	0	1,9	100

Tableau 18 : Résultats comparés des activités de la LDH et de ses Isoenzymes dans le plasma frais et dans le plasma congelé.

- Au cours de cette étude, nous avons réalisé une migration électrophorétique comparée des 5 isoenzymes appartenant respectivement aux bovins étudiés et à des témoins humains venant de faire un infarctus du myocarde.

Tableau 19 - Photo 1.

Variables	Bovins $\bar{X}$	Hommes $\bar{X}$
LDH totale UI/L	1490	882
LDH ₁ %	57,4	54
LDH ₂ %	24,6	31,2
LDH ₃ %	10,7	11
LDH ₄ %	5,5	1
LDH ₅ %	1,9	2

Tableau 19 : Comparaison des valeurs moyennes des activités de la LDH et de ses isoenzymes chez les bovins étudiés et des humains souffrant d'un infarctus du myocarde.

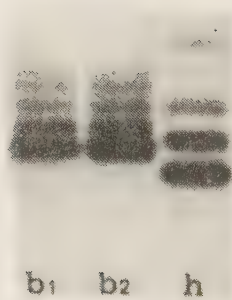


Photo 1 : Exemple de migration électrophorétique comparée : Bovins **b**, Humain **h**. (infarctus du myocarde).

- Notre propos n'est pas de comparer ici les valeurs LDH et Isoenzymes des bovins à ceux de l'homme.

Mais il est intéressant de constater une migration électrophorétique différente entre les 5 isoenzymes des bovins et ceux des humains.

Ce qui laisserait supposer que les fractions moléculaires de la LDH des bovins soient légèrement différentes de celles de l'homme. Ceci mériterait un travail plus approfondi.

III - RESULTATS BRUTS

Les résultats bruts sont consignés en annexe A.

Pour faciliter l'exposé, nous utiliserons les abréviations suivantes :

- Elv : Eleveur
- P.V. : Poids vif
- PC : Poids carcasse
- VIAN : Poids viande commercialisable
- AspAT : Activité plasmatique de l'aspartate aminotransférase
- AlAT : Activité plasmatique de l'alanine aminotransférase
- CK : Activité plasmatique de la créatine kinase
- ALD : Activité plasmatique de l'aldose
- LDT : Activité plasmatique de la lacticodeshydrogénase totale
- LD₁ : Isoenzymes LDH₁ de la lacticodeshydrogénase
- LD₂ : Isoenzymes LDH₂ de la lacticodeshydrogénase
- LD₃ : Isoenzymes LDH₃ de la lacticodeshydrogénase
- LD₄ : Isoenzymes LDH₄ de la lacticodeshydrogénase
- LD₅ : Isoenzymes LDH₅ de la lacticodeshydrogénase
- GPsg : Activité de la peroxydase du glutathion dans le sang total
- GPcu : Activité de la peroxydase du glutathion dans le culot de centrifugation
- Se : Taux de sélénium plasmatique
- Hem : Hématocrite
- Numg : Numération globulaire

Les activités enzymatiques sont exprimées dans le nouveau système d'unités internationales ; le Se en g/l ou en g/kg ; les mesures baryétriques en kg.

IV - ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les commémoratifs dont nous disposons pour expliquer les fluctuations des variables baryométriques ou biochimiques sont avant tout regroupés dans la notion d'éleveur. Cela justifie notre première étude des moyennes et variances tendant à dégager pour chaque variable les différences entre élevages.

Les relations existant entre variables deux à deux (coefficient de corrélation, régression linéaire) nous permettent une première approximation des liens existant entre les événements de l'expérience.

Ces deux premières approches statistiques des résultats sont regroupées dans le paragraphe "Analyse statistique classique".

Cependant, seule l'étude conjointe des principales variables par des méthodes d'analyses multidimensionnelles permet de dégager l'essentiel de l'information contenue dans cet essai. Cette dernière étape qui se veut avant tout descriptive comprend une analyse en composantes principales des variables quantitatives, puis l'introduction d'une variable qualitative : la variable Eleveur. Nous cherchons enfin grâce à l'analyse discriminante à sélectionner les variables distinguant le mieux les éleveurs les uns des autres et tentons d'en dégager quelques conclusions pratiques.

Variable	Moyenne	Ecart type σ	Coef. de variation	Plus petite valeur		Plus grande valeur	
				Valeur	Nb de σ à la moyen.	Valeur	Nb de σ à la moyen.
AGE	7.90	2.03289	0.257328	4.0000	- 1.92	13.0000	2.51
PV (kg)	674.80	76.11055	0.112790	580.0000	- 1.25	920.0000	3.22
PC (kg)	349.06	47.43047	0.135881	273.0000	- 1.60	478.0000	2.72
VIAN (kg)	238.46	38.71571	0.162357	175.0000	- 1.64	335.0000	2.49
AsPAT (UI/1)	38.72	6.42076	0.165825	28.0000	- 1.67	52.0000	2.07
ALAT (UI/1)	17.24	2.84684	0.165130	12.0000	- 1.84	24.0000	2.37
CK (UI/1)	23.22	9.85878	0.424581	11.0000	- 1.24	62.0000	3.93
ALD (UI/1)	46.78	27.38858	0.585476	5.0000	- 1.53	101.0000	1.98
LDT (UI/1)	1136.60	170.01573	0.149583	832.0000	- 1.79	1893.0000	4.45
LD ₁ (%)	70.36	5.00922	0.071194	56.0000	- 2.87	84.0000	2.72
LD ₂ (%)	21.66	4.64059	0.214247	13.0000	- 1.87	31.0000	2.01
LD ₃ (%)	6.50	2.27004	0.349236	2.0000	- 1.98	11.0000	1.98
LD ₄ (%)	1.46	0.93044	0.637286	0.0	- 1.57	5.0000	3.80
GPCU (UI/1)	2481.68	1568.94178	0.632210	858.0000	- 1.03	7073.0000	2.93
GPSg (UI/1)	2242.66	1487.63858	0.663337	159.0000	- 1.40	7385.0000	3.46
Se (g/1)	0.36	0.20118	0.550883	0.0700	- 1.47	0.8200	2.26
Nunq (M)	8.05	1.74153	0.216096	5.8800	- 1.25	16.8400	5.04

Remarque : Nombre de σ à la moyenne = distance en nombre d'écart types de la plus faible (ou forte) valeur à la moyenne. Cette valeur donne une idée de la symétrie du groupe par rapport à la moyenne et permet dans certains cas de détecter des valeurs aberrantes.

Tableau 20 : Moyennes, écarts types et coefficients de variation de chacune des variables étudiées pour les animaux des 6 élevages réunis (n = 6).

A - Analyse statistique classique

1) Résultats moyens et variances pour l'ensemble des animaux

Les moyennes, écarts-types et écarts à la moyenne des plus petites et plus grandes valeurs regroupées au tableau 20 nous suggèrent les remarques suivantes :

- La variabilité du poids de viande est supérieure à celle du poids vif. Ceci souligne que la variabilité individuelle des vaches allaitantes ne peut pas être résumée que par leur poids vif.

- Les valeurs moyennes des variables enzymatiques étudiées sont proches de celles proposées dans la littérature (KELLER et coll., 1971 - MOUTHON, 1967 - GENIN, 1969) sauf pour l'activité aldolase qui semble ici trois ou quatre fois supérieure à celle citée par DZIEWIECKI et coll. en 1979.

- Certains individus ont une activité enzymatique plasmatique supérieure à la moyenne générale d'au moins 3 ou 4 écarts types (CK, LDH, GPsg, GPCu) ce qui suggère l'existence d'animaux pathologiques.

- Les concentrations plasmatiques en sélénium présentent une dispersion (de 0,07 à 0,82 g/l) plus large, pour une valeur moyenne semblable à celle publiée par GENIN, 1979.

2) Analyses de variances et comparaison des résultats par élevage

Les résultats moyens rapportés au tableau 21 sont comparés par une analyse de variance - Test F - (SNEDECOR, 1962) et par le test de DUNCAN, 1965.

Rappel :

Le test F de Fisher compare la variabilité liée aux différences ENTRE élevage à la variabilité A L'INTERIEUR des élevages, appelée encore "Erreur" ou variabilité due au hasard, qui regroupe tous les facteurs non contrôlés (variation individuelle due aux manipulations, dosages, conditions d'environnement, etc...).

Le coefficient de variation résiduel est le reflet de cette variabilité non contrôlée pour chaque variable.

Le test de DUNCAN de comparaison de 3 moyennes deux à deux n'est réalisé que si le test F est significatif au seuil de probabilité de 95 %.

A titre d'exemples, les analyses de variances des variables PV, AspAT, ALD, LDH₃, LDH₄, GPCu, GPsg et Se sont présentées en annexe A2 à A9.

Afin de faciliter la lecture du tableau 21, nous illustrons les résultats par les schémas 12 et 13.

Variables	Moyennes par éleveur						Moyen. des 6 élev.	Analyse de variance signification du Test F	coeff. variat. résiduel
	1	2	3	4	5	6			
P. V.	683 b (101.4)	599 c (88.9)	679 b (100.8)	777 a (115.4)	662 bc (98.3)	641 bc (95.2)	673.5 (100)	THS	0.076
P. C.	357.5 (102.7)	311 (89.3)	352.1 (101.1)	409 (117.4)	339 (97.4)	320.9 (92.1)	348.3 (100)	THS	0.097
AspAT	42.4 a (109.8)	31.9 d (82.6)	34.4 cd (89.1)	45.4 a (117.6)	40.7 ab (105.4)	36.9 bc (95.6)	38.6 (100)	THS	0.129
AIAT	18.4 (106.3)	16.7 (96.4)	15.5 (89.5)	19.4 (112)	16.2 (93.6)	17.7 (102.2)	17.3 (100)	"S"	0.161
CK	18.9 (84.2)	17.8 (79.3)	19.7 (87.8)	23.5 (104.8)	29.9 (133.3)	24.8 (110.5)	22.4 (100)	"S"	0.395
ALD	48.3 ab (104.7)	33.7 b (73.0)	32.8 b (71.1)	43.8 ab (94.9)	49.1 ab (106.4)	69.2 a (149.9)	46.2 (100)	S	0.592
LDH1	1200.1 (104.8)	1131.4 (98.7)	1209.4 (105.5)	1126.3 (98.3)	1103.5 (96.4)	1103.4 (96.3)	1145 (100)	NS	0.145
LDH ₁	73.1 (104.5)	68.3 (97.7)	69.5 (99.4)	68.9 (99.5)	72.7 (104.0)	67.1 (95.9)	69.93 (100)	"S"	0.071
LDH ₂	18.5 b (83.5)	25.8 a (116.5)	22.6 a (102.0)	25 a (112.9)	17.8 b (80.4)	23.2 a (104.7)	22.15 (100)	THS	0.168
LDH ₃	6.4 ab (98.5)	4.9 b (75.4)	6.7 ab (103.1)	5 b (76.9)	7.7 a (118.5)	8.3 a (127.5)	6.5 (100)	THS	0.317
LDH ₄	2 ab (144.2)	1 ^c (72.1)	1.1 c (80.8)	1.1 c (79.3)	1.7 abc (122.6)	1.4 bc (101.0)	1.4 (100)	HS	0.614

Tableau 21 a : Résultats moyens par éleveur et Analyses de variances (Test F).

Variables	Moyennes par éleveur						Moyen. des 6 élev.	Analyse de variance signification du Test F	coeff. variat. résiduel
	1	2	3	4	5	6			
GPCu	1679.4 b (71.7)	1695.3 b (72.4)	1632.2 b (69.7)	1882.1 b (80.4)	1898.5 b (81.1)	5254 a (224.5)	2340 (100)	THS	0.304
GPsg	2290.3bc (110.8)	505.7 a (24.5)	1500.1 c (72.6)	1416 c (68.5)	2628 b (127.2)	4057.9 d (196.4)	2066 (100)	THS	0.451
Se	0.393 d (117.1)	0.098 a (29.2)	0.155 a (46.2)	0.265 e (78.9)	0.476 c (141.8)	0.627 b (186.8)	0.336 (100)	THS	0.223
Ham	39.9 b (97.4)	33.5 c (81.8)	40.1 ab (97.9)	42.7 ab (104.2)	44.6 ab (108.9)	45.0 a (109.8)	41.0 (100)	THS	0.118
Num G.	8.025 ab (100.4)	6.563 c (82.0)	7304 bc (91.2)	8.356 ab (104.5)	9.226 a (115.4)	8.520 ab (106.6)	8.00 (100)	THS	0.192

1. Seuils de signification

- NS : non significatif - Risque $\alpha > 10\%$
- "S" : significatif - Risque $\alpha \in (5 - 10)\%$
- S : significatif - Risque $\alpha \in (1 - 5)\%$
- HS : hautement significatif - Risque $\alpha \in (0,1 - 1)\%$
- THS : très hautement significatif - Risque $\alpha < 0,1\%$.

2. Test de Duncan (comparaison de moyenne)

- Les moyennes signalées par une même petite lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

3. Les chiffres entre parenthèses indiquent l'index à la moyenne.

Tableau 21 b : Résultats moyens par éleveur et Analyses de variances (Test F).

Variables	E L E V E U R S					
	(Teneur croissante en sélénium alimentaire) →					
	2	3	4	1	5	6
Sélénium plas.		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
GSH.Px sg		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
GSH.Px cu	•••••		•••••	•••••	•••••	•••••
ALD	•••••		•••••	•••••	•••••	•••••
LDH ₃		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
Num. Globulaire			•••••	•••••	•••••	•••••
CK			•••••		•••••	•••••
PV et PC		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
AspAT		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
AlAT	•••••		•••••	•••••	•••••	•••••
LDH ₁	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
LDH ₂	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
LDH ₄		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
LDH ₁ (N.S.)	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••

Légende :



Les éleveurs sont classés pour chaque variable du plus fort (1) au plus faible (6) selon les symboles utilisés dans les carrés du tableau.

Schéma 12 : Diagramme schématique du "classement" des éleveurs.

Les teneurs moyennes en sélénium plasmatique varient très largement d'un éleveur à l'autre (de 0,098 éleveur 2 à 0,627 éleveur 6). Etant donné le thème de notre travail, nous avons classé les élevages par teneurs croissantes en sélénium. Les six éleveurs se classent de manière à peu près régulière entre les deux extrêmes pré-cités dans l'ordre 2 - 3 - 4 - 1 - 5 - 6. Cet ordre correspond aux données nutritionnelles enregistrées pour le sélénium.

Le schéma 12 montre que certaines variables (glutathion peroxydase du sang et du culot, aldolase, isoenzyme 3 de la lactico-deshydrogénase, créatine kinase et numération globulaire) se classent dans un ordre croissant voisin de celui observé pour la variable sélénium. Les éleveurs 5 et 6 sont notamment toujours ceux qui ont les moyennes les plus élevées. Par contre, les transaminases (AspAT, AlAT) semblent plus élevées chez les éleveurs ayant des animaux plus lourds (éleveurs 4 et 1). Les teneurs plasmatiques en LDH totales ne sont pas différentes significativement d'un élevage à l'autre. Les différences observées entre éleveurs pour les isoenzymes 1 - 2 et 4 de la LDH sont d'interprétations plus difficiles. L'éleveur 2 se caractérise par des teneurs plasmatiques faibles ou très faibles pour toutes les variables biochimiques analysées à l'exception de la LDH₂ pour laquelle on observe au contraire les valeurs maximales. L'éleveur 2 a aussi les animaux les moins lourds.

Le schéma 12 révèle une certaine typologie d'élevage :

- 2 - 3 : globalement faibles (LDH₂ excepté).
- 4 - 1 : moyens, mais animaux lourds à transaminases élevées.
- 5 - 6 : fortes teneurs plasmatiques en la plupart des enzymes (sauf transaminases) et en sélénium.

On ne constate donc point pour les élevages à sélénium plasmatique bas (2 - 3) d'élévation plasmatique importante des enzymes qui pourraient signaler un trouble pathologique tissulaire inapparent sur le plan clinique chez les adultes. Le manque d'information sur les variations cliniques de la LDH₄ chez les ruminants limite notre observation à un simple constat d'exception.

Cependant, le schéma 12 rend mal compte des variations quantitatives existant d'un élevage à l'autre. Le schéma 13 vante de répondre à cette critique.

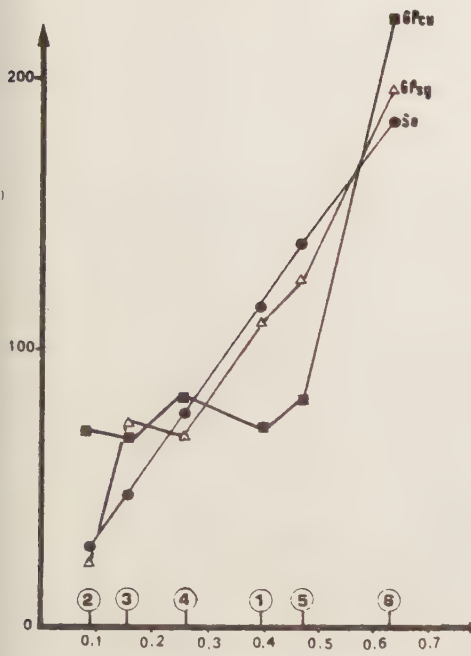
Lecture du schéma 13 :

Groupe : Se - GPcu /12345<6/ - GPsg /6>51>34>2/.

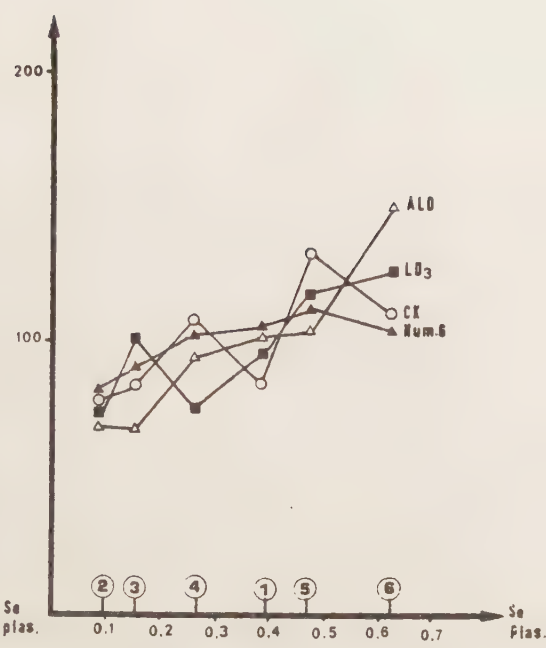
Groupe : ALD/- 6>145>23/ - LD3 /56>31>24/ - CK (≈) - Numg/5>46>3/.

Groupe : PV/ 4>13>56>2/ - AspAT/ 41>5>6>3>2/ - AlAT (≈)

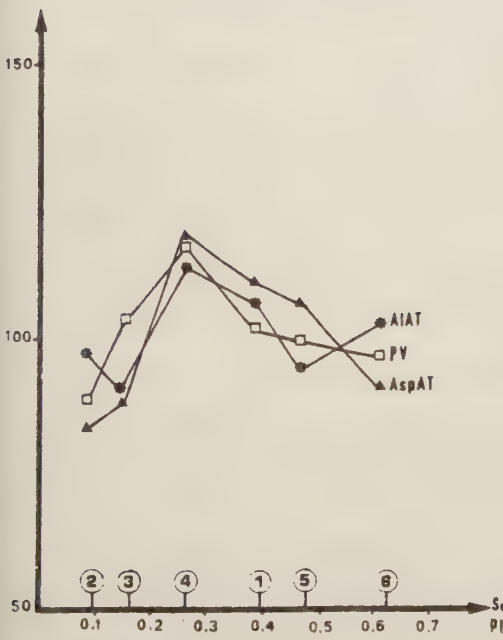
Groupe : LDH_T (=) - LDH₁ (≈) - LDH₂/ 2346>15/ - LDH₃/56>31>24/ LDH₄/ 1>56>234/.



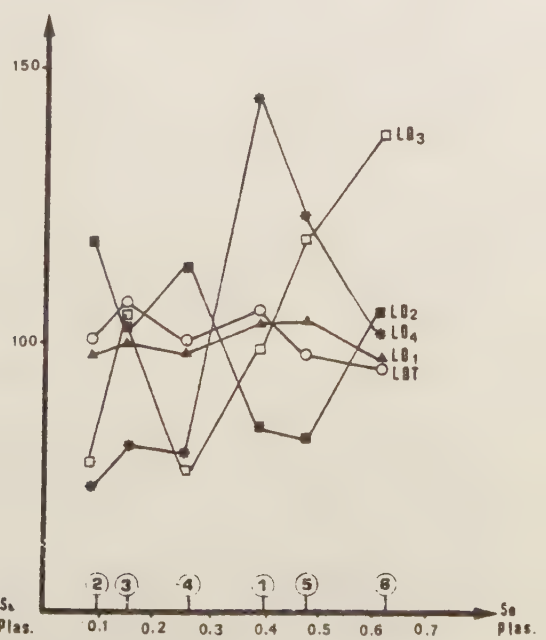
Groupe: Se-6Pcu-6P3g.



Groupe: ALD-LD3-Num.6-CX.



Groupe: PY_AspAT-AIAT.



Groupe: LDH7-LDH1-LDH2-LDH3-LDH4.

schéma 13 : Moyennes indexées par éleveur (100 = Moyenne des élevages).
Les moyennes sont classées par éleveur à Se plasmatique croissante.

Le schéma 13 reprend les moyennes indexées du tableau et les classe pour chaque variable en fonction de la teneur plasmatique moyenne en sélénium observée pour chaque élevage. On constate que la GPsg suit de manière assez régulière l'augmentation du Se plasmatique alors que la GPCu semble "en plateau" pour les éleveurs 2 - 3 - 4 - 1 - 5 et ne révèle une augmentation sensible que pour l'éleveur 6. Ces deux aspects des variations de la peroxydase du glutathion ne permettent pas de définir une notion de teneur minimale en sélénium plasmatique. En effet, aucune saturation de l'activité enzymatique n'est constatée. Il semble qu'une analyse beaucoup plus précise des variations de la peroxydase du glutathion en fonction de la séléniémie ou de l'apport alimentaire de sélénium doive être faite. Nous y reviendrons dans la discussion. D'autre part, les variations relatives des deux techniques de mesure de la GP (sang ou culot) posent des problèmes méthodologiques que nous discuterons également plus tard. Bornons nous à constater ici que les différences GPsg - GP culot varient de sens et d'importance d'un élevage à l'autre.

Les teneurs plasmatiques moyennes en ALD et LDH₃ croissent de manière assez régulières, mais beaucoup plus faibles quand la teneur du plasma en sélénium augmente. Il est absolument impossible par cette seule observation d'y trouver un lien de causalité. Il y a seulement concomitance entre les variations de moyennes, tout comme il y a concomitance avec la variation de la numération globulaire par exemple. Les variations de CK sont plus irrégulières et semblent plutôt opposer les éleveurs 5 - 6 (24) aux éleveurs 1 - 2 - 3. Le schéma 13 confirme les variations parallèles des transaminases et du poids des animaux. Une réelle relation entre ces variables nécessiterait une étude beaucoup plus large que la notre.

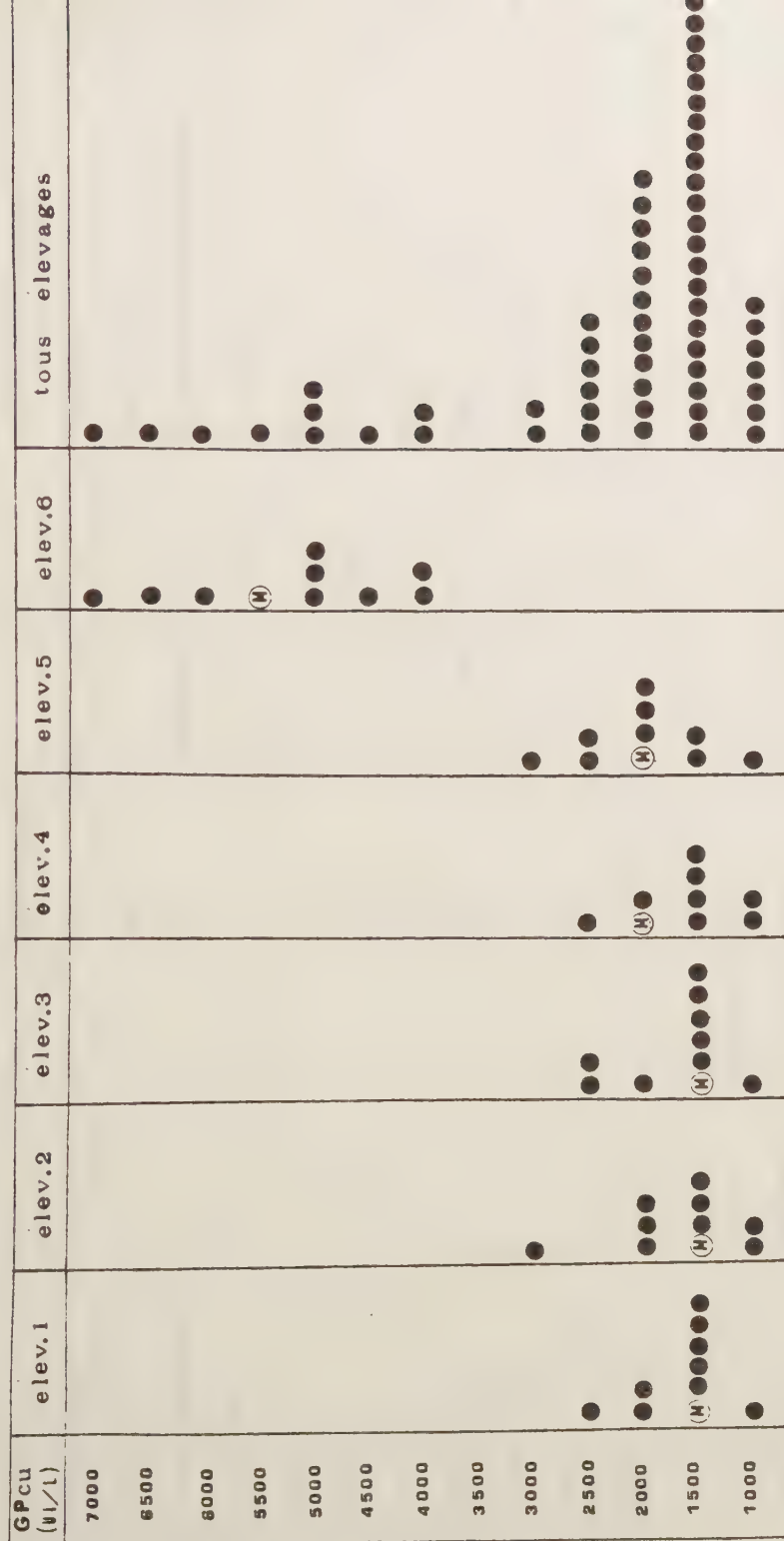
Les variations des proportions des isoenzymes de la LDH d'un éleveur à l'autre sont observées alors que la teneur plasmatique en LDH totale semble relativement constante. Nous avons cependant vérifié que l'expression des teneurs en isoenzymes en pourcentage de la LDH totale ou en UI/l de plasma ne change pas le sens ou l'importance des différences signalées de manière sensible.

3) Histogrammes - Notion de variabilité individuelle

L'étude des différences entre moyennes ne doit pas masquer l'existence des variations individuelles importantes à l'intérieur d'un même élevage. Ainsi, certaines variables enzymatiques en particulier ont des coefficients de variations résiduelles élevés (7 à 60 %, cf tableau).

A titre d'exemple, nous reprenons au schéma 14 sous forme d'histogrammes les résultats obtenus pour trois variables d'intérêt majeur dans notre étude : Se plasmatique, GPCu et GPsg. Ce schéma rend compte d'une variabilité individuelle différente selon la variable (les données enzymatiques semblent plus dispersées que le sélénium) et selon l'éleveur (comparez éleveur 2 et 6 par exemple). Ce dernier point est susceptible de fausser les résultats de l'analyse de variance qui suppose

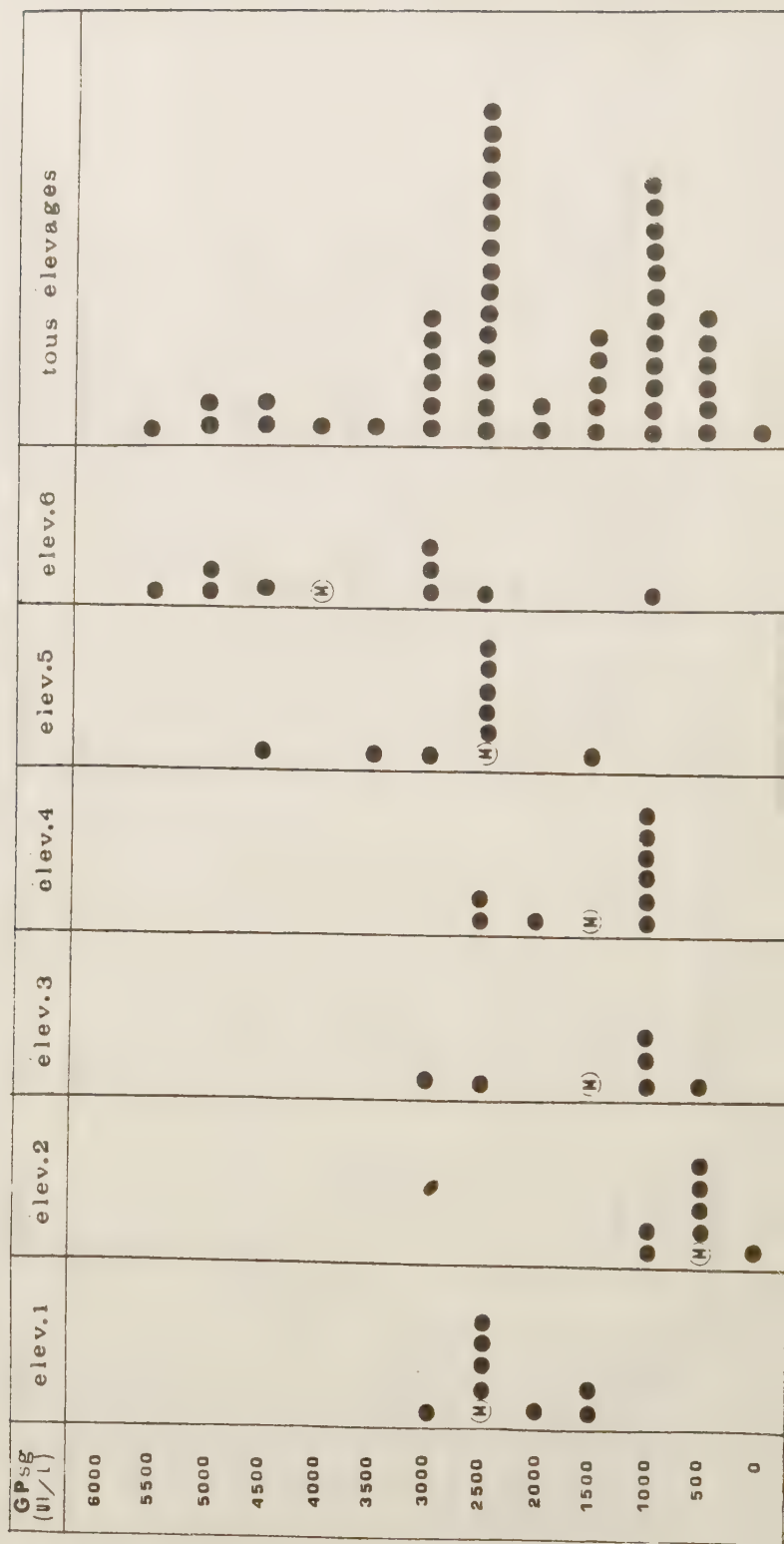
1) De l'activité GP dans le culot de centrifugation.



● : Un point représente une vache.

(M) : Correspond à la moyenne.

2) De l'activité GP dans le sang total.



3) Des taux de Sélénium plasmatique.

Se plas. (µl/l)	elev.1	elev.2	elev.3	elev.4	elev.5	elev.6	tous élevages
0,840						●	●
0,770							
0,700					● ●	● ●	● ●
0,630					(M) ● ● ●	● ● ● ●	● ● ● ●
0,560				● ●	● ●	● ●	● ● ● ●
0,490	● ●			(M) ● ● ● ●	● ● ● ●	● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ●
0,420	(M) ● ●			● ● ● ●	● ●	● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
0,350	● ● ● ● ●			● ●	● ●	● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
0,280					● ● ● ●	● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
0,210			● ●	● ●	● ● ● ●	● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
0,140		● ● ● ● ●	(M) ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ●		● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
0,070		(M) ● ● ● ● ● ● ● ●		● ●		● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●

à priori l'égalité des variances d'un traitement à l'autre.

Ces histogrammes soulignent la difficulté, voire les dangers de l'interprétations des moyennes lorsque le nombre d'individu par traitement est faible. Notons au passage que cette variabilité est mieux prise en compte par les analyses multidimensionnelles (qui permettent un retour graphique à la dispersion des individus) que dans les analyses statistiques classiques.

4) Correlations et régressions

a - Matrice des coefficients de corrélation entre variable

Les coefficients de corrélation entre couple des variables principales sont présentés au tableau 22.

Rappel : Le coefficient de corrélation permet d'avoir une idée de la relation linéaire existant entre deux variables (le comitance de la croissance ou de la décroissance de deux variables produit un coefficient de corrélation proche de 1). Cependant, le coefficient de corrélation n'a de sens que si les deux variables corrélées ont une distribution homogène et à peu près normale. Cette condition nécessaire n'est pas rigoureusement respectée dans nombre de nos variables (cf Histogramme regroupant les 6 élevages du schéma 14). Rappelons enfin que le carré du coefficient de corrélation donne une estimation du pourcentage de variance d'une variable qui est concomitante avec l'autre.
(exemple : $R = 0,7 \rightarrow 50\%$ de la variance ; $R = 0,3 \rightarrow 10\%$ de la variance).

Nous retrouvons sur la matrice des coefficients de corrélation (tableau 22) un certain nombre d'observations déjà évoquées lors de l'étude des moyennes par éleveur :

- la relation format (ici poids de viande) - transaminases,

- les corrélations positives Se - CK - ALD - LDH₃ - GPsg - GPcu.

D'autres "liens" apparaissent dans ce tableau :

- opposition LDH₁ - LDH₂ qui indique que les animaux à fort LDH₁ ont des teneurs LDH₂ plutôt faible et vice versa,

- opposition LDH₁ - LDH₃ (ou LDH₄), ce qui semblerait suggérer que l'augmentation d'un des isoenzymes 2, 3 ou 4 se ferait aux dépens de l'isoenzyme majeur 1.

Cependant, ces observations doivent être nuancées à cause du mode d'expression de ces isoenzymes qui introduit un léger biais (cf coefficient de corrélation multiple très élevé) la somme LDH₁ + LDH₂ + LDH₃ + LDH₄ étant égale à 100.

- Les coefficients de corrélation liant la variable LDH₄ à AspAT, ALD ou LDH₂ sont à considérer avec circonspection en égard à la relative imprécision de l'estimation de LDH₄.

- La corrélation négative GPcu - LDH₁ pourrait être une conséquence indirecte du lien positif Se - CK - ALD - LDH₃ - GPcu et GPsg d'une part et négatif entre LDH₁ et LDH₃ déjà cité d'autre part.

	VIAN	AspAT	ALAT	CK	ALD	LD1	LD2	LD3	LD4	GPCu	GPsg	Se	Coeff. corr.mult.	
VIAN	1.000												0.32753	
AspAT	<u>0.385</u>	1.000											0.49329	
ALAT	<u>0.362</u>	0.223	1.000										0.22821	
CK	0.163	-0.097	0.050	1.000									0.56057	
ALD	0.013	0.081	-0.139	0.181	1.000								0.38972	
LD1	0.066	-0.095	0.148	0.109	-0.161	1.000							0.22381	
LD1	0.059	0.049	-0.095	-0.206	-0.084	-0.290	1.000						0.99960	
LD2	-0.017	-0.175	0.131	0.020	-0.057	0.270	-0.850	1.000					0.99954	
LD3	-0.141	0.130	-0.114	<u>0.302</u>	0.297	0.105	<u>-0.457</u>	-0.047	1.000				0.99795	
LD4	0.091	<u>0.325</u>	0.127	0.198	-0.812	-0.050	0.018	<u>-0.355</u>	0.204	1.000			0.98847	
GPCu	-0.218	-0.180	-0.044	0.181	<u>0.406</u>	-0.141	-0.301	0.148	<u>0.368</u>	-0.021	1.000		0.75096	
GPsg	-0.189	0.005	-0.109	0.099	<u>0.350</u>	-0.098	-0.159	-0.058	0.375	0.241	<u>0.692</u>	1.000	0.66474	
Se	-0.167	0.120	0.003	<u>0.282</u>	<u>0.452</u>	-0.177	-0.005	-0.261	<u>0.467</u>	0.218	<u>0.729</u>	<u>0.735</u>	1.000	0.82053

Les coefficients soulignés sont significatifs ($P > 0,95$).

Tableau 22 : Matrice des coefficients de corrélation pour l'ensemble des différents paramètres sanguins et du paramètre poids de viande.
 Nombre d'animaux = 52 - Limite de signification $P > 0,95 = \pm 0,273$

Les coefficients de corrélation multiples (corrélation entre une variable et l'ensemble des autres) indiquent que ALAT et LDH_i sont peu corrélées avec les autres variables étudiées dans cet essai.

En fait, on trouvera dans l'étude des analyses en composantes principales exposée ci-dessous une illustration beaucoup plus claire des liens existant entre variables.

b - Régressions

Au cours des différentes analyses qui précèdent, nous avons à plusieurs reprises mentionné les relations Se - GPsg GPCu comme étant majeures. Il est intéressant d'étudier comment ces trois variables se relie à l'apport alimentaire de sélénium.

La ration journalière apportée à nos vaches allaitantes est en moyenne de :

Eleveur 2 : 0,11 mg de Se/Al/jour

Eleveur 4 : 0,39 mg de Se/Al/jour

Eleveur 3 : 0,71 mg de Se/Al/jour

Eleveur 5 : 1,66 mg de Se/Al/jour

Eleveur 6 : 1,90 mg de Se/Al/jour

Eleveur 1 : 2,70 mg de Se/Al/jour

Le tableau 23 et le schéma 15 illustrent les relations "linéaires" existant entre le sélénium consommé d'une part, le sélénium plasmatique, la glutathion peroxydase du sang et la glutathion peroxydase du culot d'autre part.

Variable expliquée	Fonction linéaire $x = \text{Se consommé g/Al/j}$	Coefficient de corrélation
$y_1 = \text{Se plasmatique g/l}$	$y_1 = 0,015x + 0,147$	0,75*
$y_2 = \text{GPsg UI/l}$	$y_2 = 89,45x + 953$	0,73*
$y_3 = \text{GPCu UI/l}$	$y_3 = 45,12x + 1179$	0,32

* Significatif au seuil de probabilité $P > 0,90$.

Tableau 23 : régressions Se, GPsg et GPCu en fonction du Se consommé.

n : 6 élevages (environ 10 animaux par élevages).

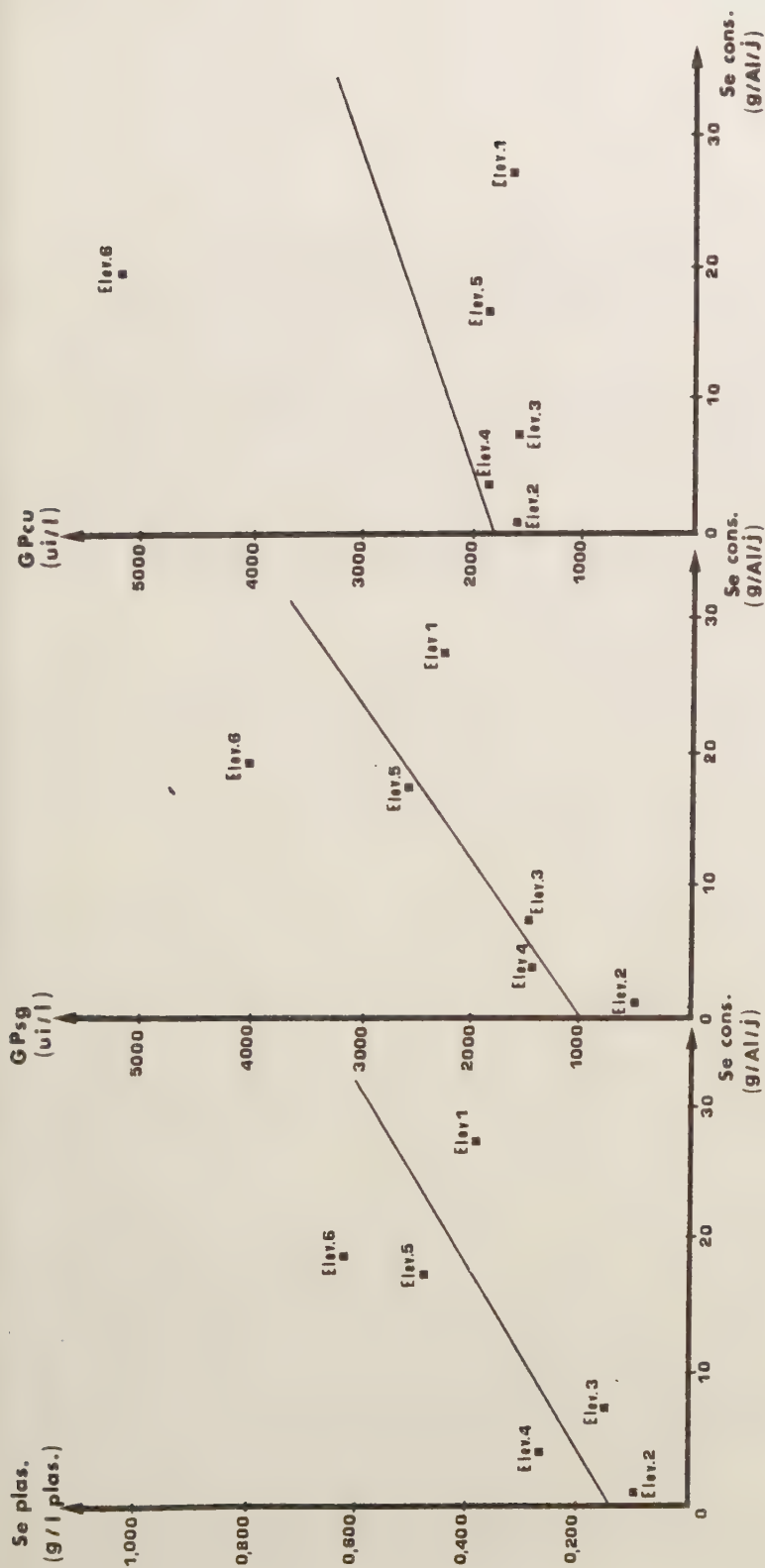


Schéma 15 : Régression Se, GPsg et GPcu en fonction du Se consommé, n = 6 élevages (environ 10 animaux par élevage).

Etant donné le très faible nombre de points (6 élevages) et la relative imprécision de l'estimation de la ration en sélénium, les données du tableau 23 et du schéma 15 doivent être considérées comme indicatives et très peu sûrs.

On notera que les graves discordances éleveur 1 et éleveur 6 par exemple condamne toute tentative de modélisation sérieuse et ceci même pour le Se plasmétique et la GPsg qui semblent beaucoup plus liés au Se consommé que la GPcu ici.

Cet exemple est présenté pour souligner l'importance d'une expérimentation précise pour concevoir un modèle de réponse à l'apport alimentaire de sélénium. Ce point sera repris dans la discussion.

B - Analyse statistique multidimensionnelle

1) Analyse en composantes principales : A. C. P.

Cette méthode de statistique descriptive permet de déceler "les lignes de force" d'une série de résultats regroupant un grand nombre de variables et d'individus. Plus précisément, les résultats d'une expérience étant assimilés à un nuage de points-individus dans l'espace des variables, on recherche les directions de plus grande variation de ce nuage (indépendantes entre elles) ou axes composants principaux, ou facteurs. Après projection des variables dans ce nouveau système d'axes, on tente de donner aux facteurs un sens zootechnique, physiologique voire même pathologique. Puis par projection, des individus sur ces facteurs, on obtient une image épurée de l'expérience.

L'ACP sera conduite dans un premier temps en n'utilisant que des variables quantitatives : VIAN, AspAT, AlAT, CK, ALD, LDT, LD₁, LD₂, LD₃, LD₄, GPcu, GPsg (tableau 24). Puis en introduisant une variable qualitative ("élèveur") avec les précédentes, nous étudierons un cas particulier de l'ACP : PRINQUAL (TENENHAUS, 1977), ACP associant variables qualitatives et variables quantitatives.

a - ACP des variables quantitatives (n = 52)

8 données sont manquantes par fautes de manipulations : Les mesures des activités LD₁, LD₂, LD₃, LD₄ n'ont pas été réalisées pour les vaches : 101 - 201 - 210 - 301 - 302 - 303.

Nous ne retenons que les 3 premiers facteurs explicatifs F₁ - F₂ - F₃ qui représentent à eux seuls 56,5 p. 100 de la variance totale des variables initiales.

Les liaisons des différentes variables étudiées avec chaque facteur sont précisées dans le tableau 24.

projection des variables sur les plans F₁ - F₂ - F₃ (Sch. 16.17)

- Le facteur 1 explique plus du quart (25 p. 100) de la variance totale liée aux variables. La peroxydase du glutathion dans le culot de centrifugation et dans le sang total ainsi que le sélénium plasmatique sont très fortement liés à ce facteur.

L'isoenzyme LDH₃, l'ALD et la CK sont liés également à ce facteur, mais à un moindre degré.

Le facteur 1 peut être interprété comme étant "UN AXE SELENIUM" auquel est rattaché de façon très nette la sélénoperoxydase GSH.Px (du culot ou du sang total).

L'absence d'enzymes qui pourraient exprimer une pathologie musculaire, et qui devraient apparaître alors en opposition sur F₁ aux variables Se, GPcu, GPsg fait écarter l'interprétation de F₁ comme étant un "axe dystrophie musculaire".

F₁ résume ici d'une manière simple de nombreuses observations évoquées dans les analyses statistiques classiques.

Variabiles	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Qualité
Se	0.874	-0.259	0.0	0.8435
GPcu	0.829	0.0	0.0	0.8103
GPsg	0.820	0.0	0.0	0.7319
LD	0.676	0.0	0.286	0.6347
ALD	0.584	0.0	0.0	0.6184
LD	0.0	0.922	0.0	0.9438
LD	-0.326	-0.845	-0.277	0.9056
AspAT	0.0	-0.372	0.657	0.7790
VIAN	0.0	0.0	0.575	0.7579
LD	0.264	-0.399	0.553	0.7016
AlAT	0.0	0.0	0.465	0.6193
LDT	0.0	0.494	0.318	0.5168
CK	0.368	0.0	0.358	0.6355
Proportion de la variance totale expl. par le fact. F (p.100)	25.5 %	17.5 %	13.5 %	

- 1) Proportion de la variance totale expliquée par 3 facteurs : 56.5 %.
- 2) Simplification consistant à remplacer par 0 les liaisons des variables dont moins de 6 % de la variance est lié au facteur considéré.
- 3) Qualité : Proportion de la variance de chaque variable expliquée par les 3 premiers facteurs de l'ACP. Cette donnée exprime la qualité de représentation de la variable dans l'espace à 3 dimensions des 3 premiers facteurs de l'ACP.
- 4) On peut interpréter les chiffres contenus dans ce tableau en termes de variance.

Exemple :

lien facteur 1 x Sélénium = 0.874

(0.874)² = 0.76 76 % de la variance de la variable sélénium est expliquée par le facteur 1.

Tableau 24 : Tableau simplifié des liens existants entre les variables et les différents facteurs.

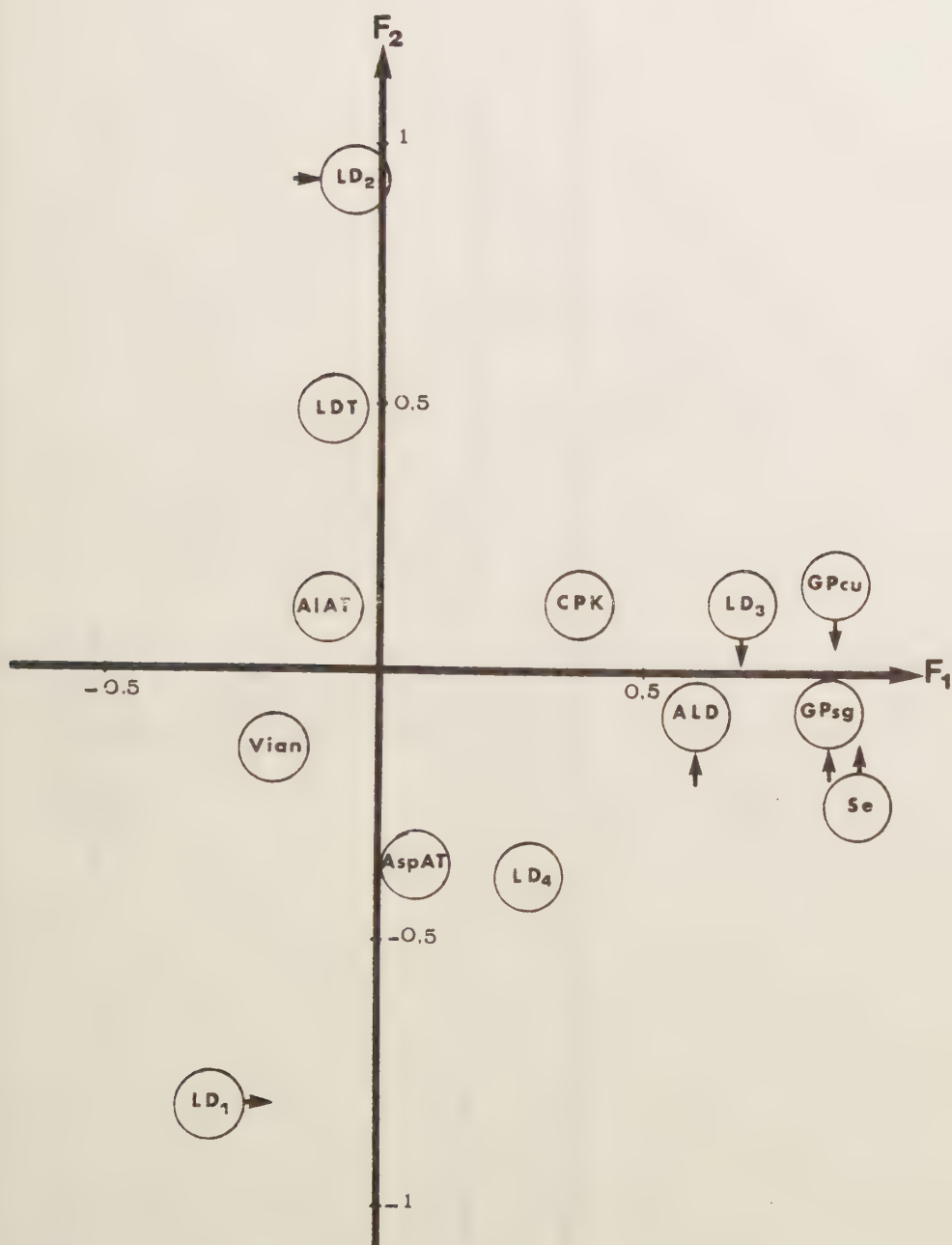


Schéma 16 : **ACP** - Représentation graphique des variables
après projection dans le plan F_1F_2

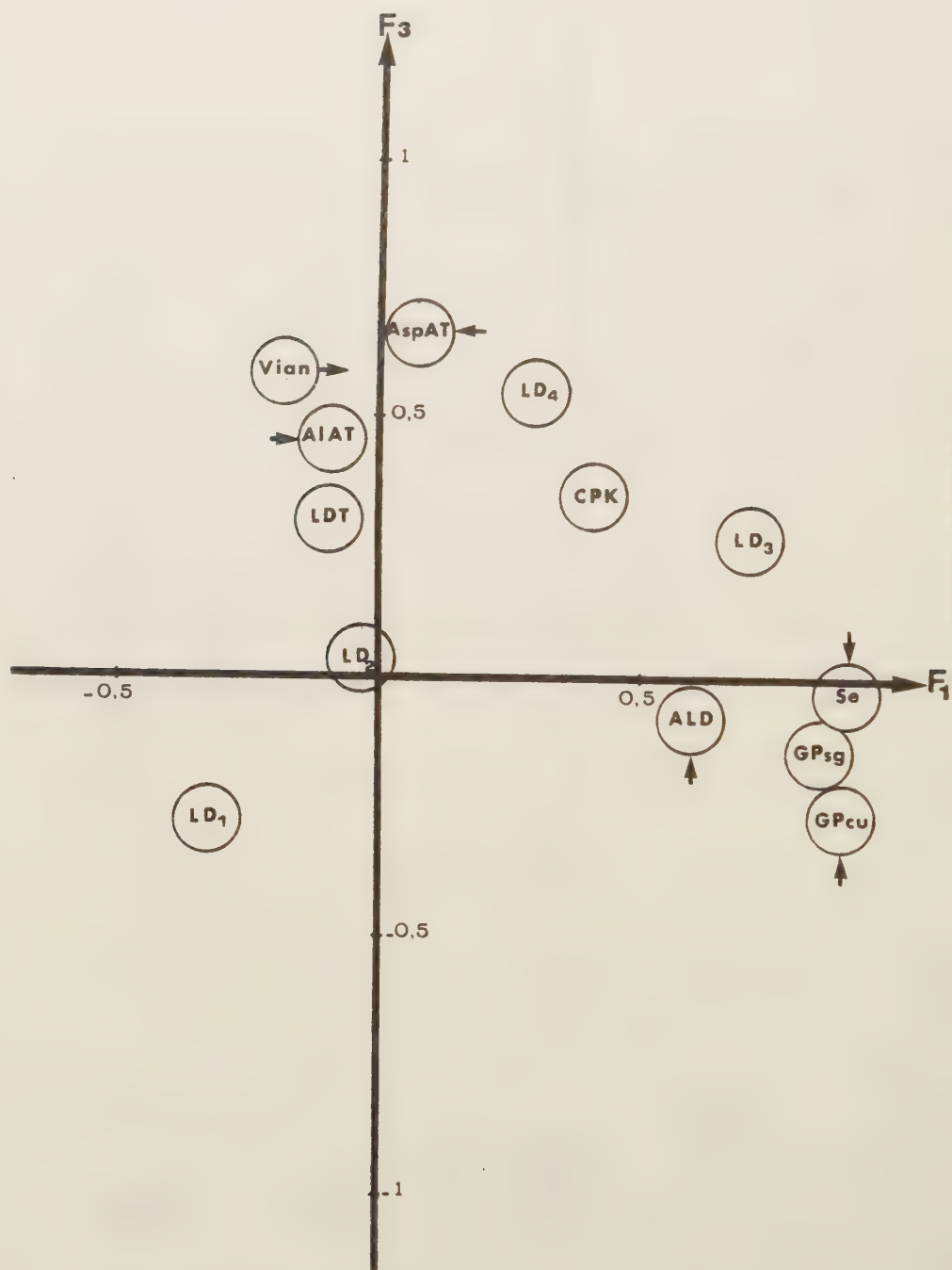


Schéma 17 : **ACP** - Représentation graphique des variables après projection dans le plan F_1F_3

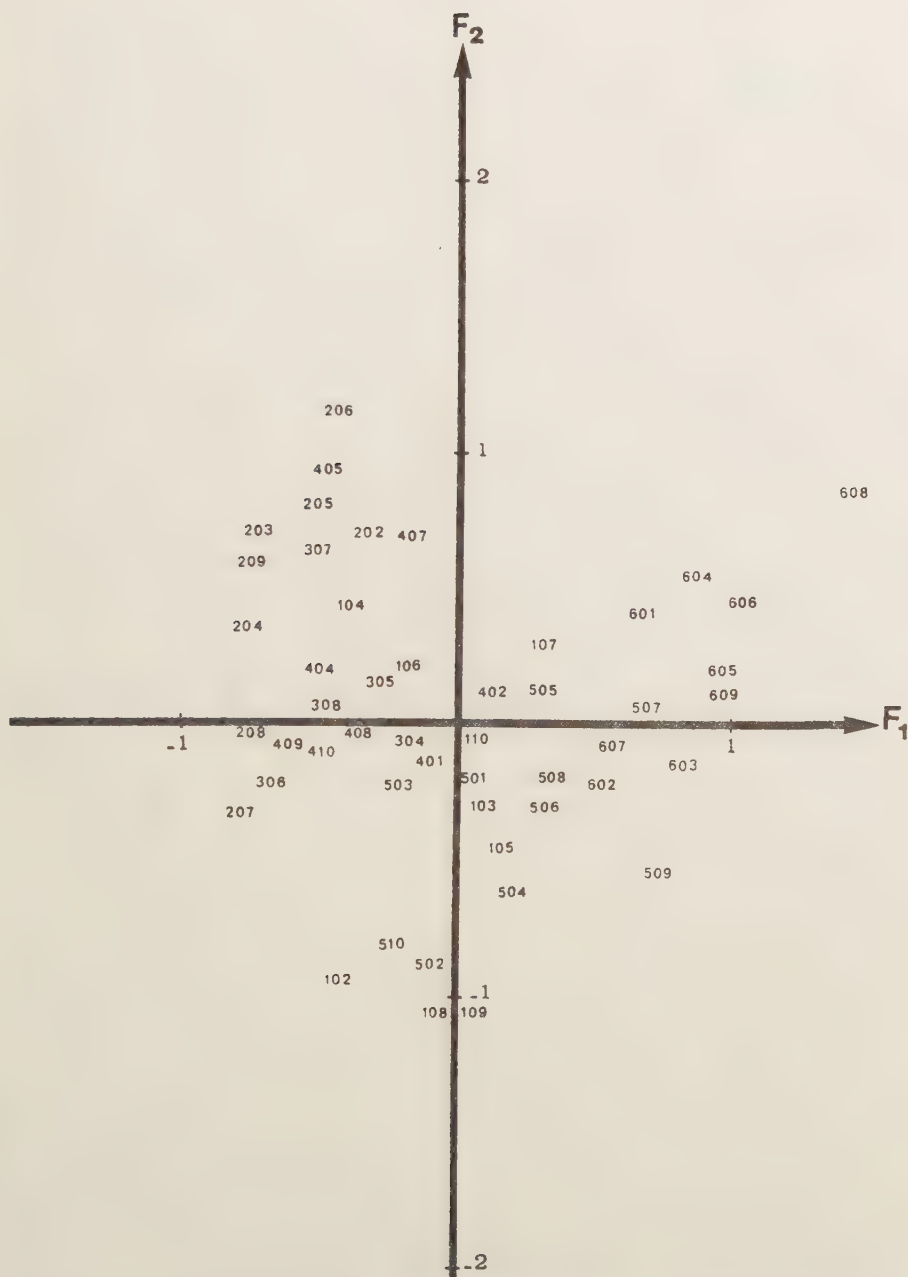


Schéma 18 : **ACP** - Représentation graphique des animaux après projection dans le plan F_1F_2

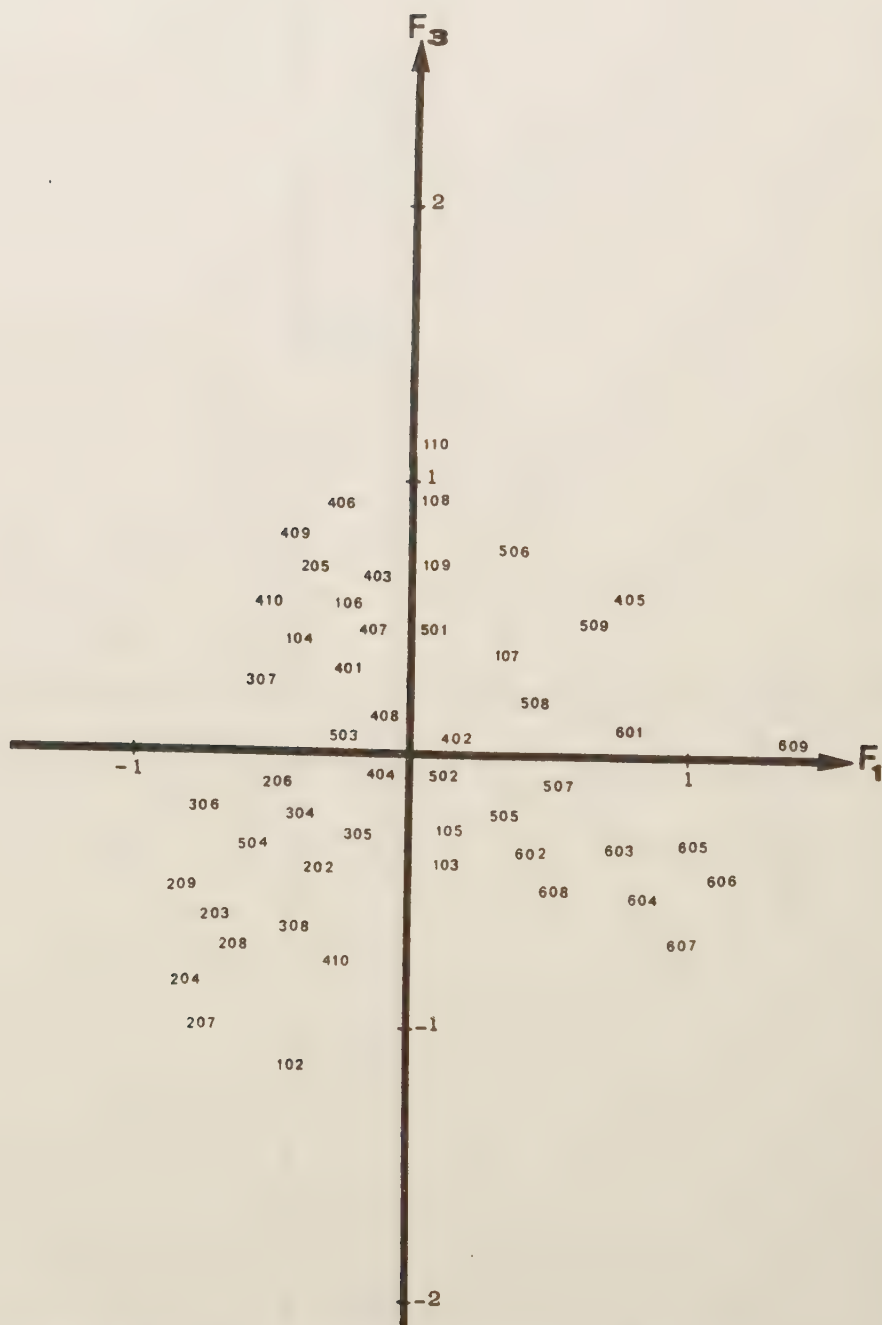


Schéma 19 : **ACP** - Représentation graphique des animaux après projection dans le plan F_1F_3

- Le facteur 2 rend compte de 17,5 % de la variance totale. Cet axe est dominé par une opposition entre les isoenzymes LDH₂ et LDH₁. Les autres variables enzymatiques sont peu représentées sur cet axe. Nous pouvons signaler cependant que LDH₁ est plutôt associé à LDH₂ fort et AspAT, et LDH₄ au contraire à LDH₁ fort.

En résumé, cet axe signifie que des animaux à LDH₁ élevée et LDH₂ basse s'opposent aux animaux à LDH₁ basse et LDH₂ élevée. Le facteur 2 peut donc être interprété comme étant un "AXE LACTICODESHYDROGENASE 1 - 2".

- Le facteur 3 explique 13,5 % de la variance. Il illustre le lien "TRANSAMINASES - FORMAT" déjà évoqué. L'ACP y associe LDH₄.

L'intérêt de l'ACP est ici de résumer en deux graphiques les observations de cet essai, mais aussi par construction mathématiques, nous constatons que les facteurs F₁ = "sélénium" F₂ = "LDH₁ - LDH₂" F₃ = "transaminases - format" sont INDEPENDANTS.

projection des individus dans l'axe représenté par les 3 facteurs F₁ - F₂ - F₃ schéma 18 et 19.

Il est intéressant de constater que les vaches de chaque élevage se regroupent entre elles sur le graphe selon une sorte "de croissant". A l'extrémité droite de celui-ci, nous retrouvons les animaux des élevages 5 et surtout 6, A l'extrémité gauche, ceux de l'élevage 2. Les animaux des élevages 3 et 4 sont regroupés au centre "du croissant". Notons une grande dispersion des animaux de l'élevage 1.

Cette disposition par rapport à l'axe "sélénium" et à l'axe "LDH₁ - LDH₂" montre qu'il semble exister des différences entre éleveurs selon ces deux facteurs indépendants.

La dispersion des animaux le long du facteur 3 ("transaminase - format") semble beaucoup moins liée à la notion d'éleveur.

b - Introduction d'une variable qualitative = notion éleveur - analyse PRINQUAL

PRINQUAL (TENENHAUS, 1977) est un programme d'analyse en composantes principales qui permet d'introduire quelques variables qualitatives en plus des variables quantitatives. Pour cela, il réalise dans un premier temps "un codage" optimal des variables nominales (= variables qualitatives), c'est à dire qu'il associe à chaque modalité de chaque variable nominale un nombre réel. Ce "codage" optimise la part de variance expliquée par les n premiers facteurs (n étant précisé par l'utilisateur) de l'ACP, effectués avec les variables numériques et les variables nominales codées. Ensuite, dans un second temps "PRINQUAL" traite en ACP l'ensemble des variables. Finalement, le phénomène pourra être représenté dans un espace de faible dimension en tenant compte des variables quantitatives et des variables qualitatives. Ainsi, une fois trouvé la "signification" zootechnique des facteurs, on pourra projeter

sur le même plan les observations et les modalités des variables nominales (AEC - THETEN, 1979).

Dans cette étude, la variable qualitative est la variable éleveur. Les variables quantitatives sont : PV - AspAT - CK - ALD - GPcu - GPsg - LDH₂ - LDH₃ - LDH₄ (ces 3 dernières variables étant exprimées ici en UI/l ; de plus, nous avons supprimé la variable LDH₁ pour éliminer la liaison LDH₁ - LDH₂ d'interprétation biologique difficile).

Le codage de la variable nominale attribuée à chaque éleveur les valeurs quantitatives suivantes :

{ Eleveur 1 = - 0,18991
 { Eleveur 2 = 1,46646
 { Eleveur 3 = 0,90119
 { Eleveur 4 = 0,68678
 { Eleveur 5 = - 0,60776
 { Eleveur 6 = - 1,41349

Ce codage fait à nouveau apparaître les différences existant entre les éleveurs (2) - (3-4) et les éleveurs (1-5-6).

Les résultats de l'analyse sont regroupés dans le tableau 25.

VARIABLES QUALITES	FACTEUR 1	FACTEUR 2	QUALITE
ELEV	- 0,957177	0,0	0,925619
PV	0,0	- 0,723510	0,552206
AspAT	0,0	- 0,851212	0,734060
CK	0,333418	0,0	0,112704
ALD	0,537824	0,0	0,313211
GPcu	0,747486	0,283358	0,639026
GPsg	0,825796	0,0	0,685236
Se	0,928629	0,0	0,868690
LDH ₂	- 0,204196	0,425050	0,222363
LDH ₃	0,540654	0,0	0,293426
LDH ₄	0,287242	- 0,472401	0,305670
QUALITES	0,361860	0,154566	

1) Qualité moyenne de la représentation des variables dans l'espace à deux dimensions : 0,51643.

Tableau 25 : Tableau simplifié des liens existants entre les variables et les différents facteurs dans l'analyse PRINQUAL.

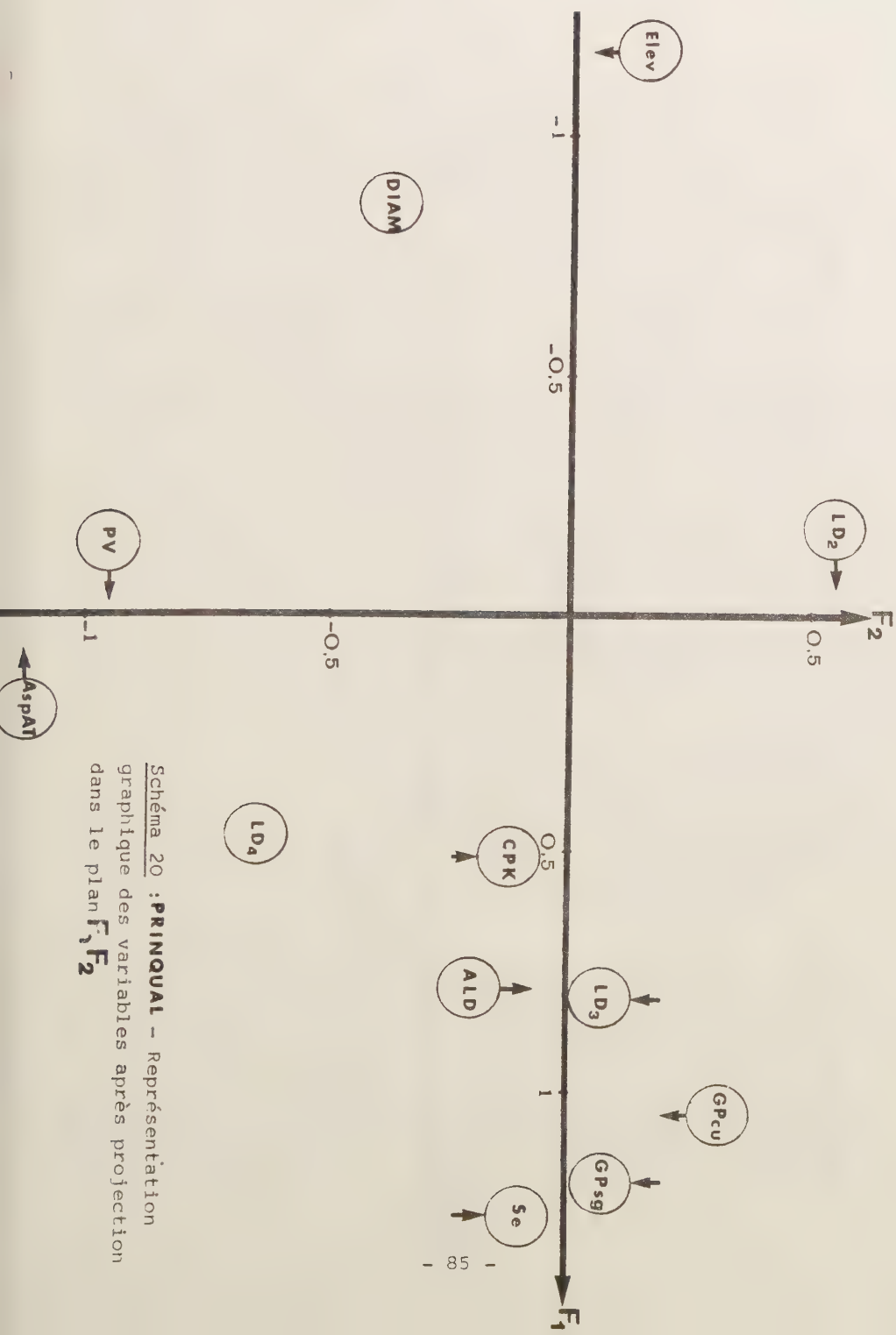


Schéma 20 : PRINQUAL – Représentation graphique des variables après projection dans le plan F_1, F_2

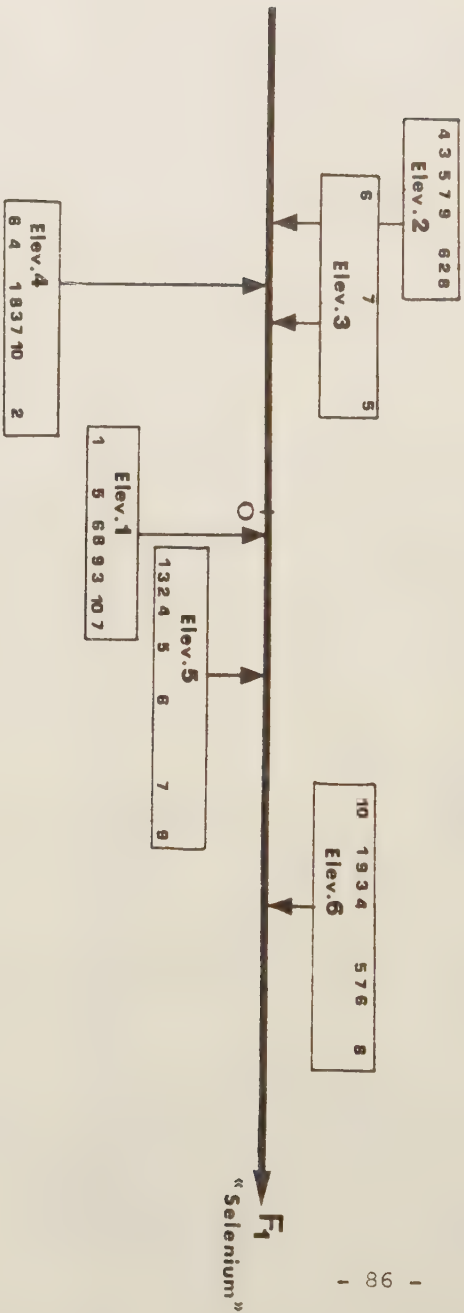


Schéma 21 : PRINCIPAL – Projection des animaux et des modalités de la variable Elevateur sur **F₁**

α Projection des variables quantitatives, accompagnés de la variable éleveur sur le plan F1 - F2 schéma 20

- Le facteur 1 (36 % de la variance) à la même signification que dans l'ACP rapportée précédemment : C'est un "AXE SELENIUM". Nous retrouvons les rapports étroits Se - GPcu - GPsg avec cet axe. De plus, PRINQUAL a permis d'associer à ce facteur 1 la variable nominale Eleveur et de façon très étroite : 92 % de la variance de l'éleveur est expliquée par le facteur 1.

- Le facteur 2 (15,5 % de la variance) est peu lié à la variable éleveur, cette dernière étant liée au facteur 1. Ce facteur est différent du F2 de l'ACP. Les variables PV, AspAT, LDH2 lui sont liées.

β Projection des animaux et des modalités de la variable éleveur sur F1

La variable éleveur étant pour l'essentiel liée à l'axe sélénium, il apparaît intéressant de concentrer notre attention sur les projections des individus (vaches) et des modalités de la variable éleveurs sur cet axe (schéma 21). Cette projection rend compte de la position de chaque éleveur et de chaque animal par rapport à l'ensemble des variables liées à l'axe sélénium (Se, GPsg, GPcu, LDH3 , ALD, CK). Cette image permet une classification des élevages ainsi qu'une représentation de leur variabilité interne par rapport au facteur de variation majeur observé dans cette expérience = la variation des teneurs plasmatiques en Se, GPsg, GPcu, LDH3, ALD, CK. Cette analyse descriptive ne suppose aucune des conditions préalables de normalité ou d'homogénéité des données nécessaires aux analyses statistiques classiques.

L'ACP et PRINQUAL ont apporté une vision descriptive de l'essai facilitant la compréhension des différentes interrelations entre variables étudiées, ce que ne faisait pas aussi nettement l'analyse de variance. Mieux, elles ont permis de définir clairement un axe d'étude : F1 = sélénium. Axe auprès duquel nous pouvons situer d'une part les variables qualitatives et quantitatives, d'autres part les animaux étudiés.

2) Analyse discriminante

Cette méthode statistique permet de classer des individus ou des groupes d'individus. Elle choisit dans un grand nombre de variables celles qui ont la plus forte valeur explicative pour discriminer le mieux des groupes d'individus déterminés. On obtient alors des fonctions mathématiques discriminantes qui permettent de classer les individus (de les affecter à un groupe en fonction des valeurs des variables retenues pour cet individu). On suit ainsi les pourcentages d'animaux correctement classés dans les différents groupes retenus après chaque itération (c'est à dire en prenant une variable, deux variables, etc de classification).

L'analyse discriminante ne sera pas conduite entre éleveurs, mais entre trois groupes : "Se -" : (Elv 2) ; "Se +" : (Elv 3 - 4) ; "Se++" : Elv (1 - 5 - 6) comme le suggère l'analyse alimentaire appuyée par les résultats des analyses précédentes.

Remarque : Comme dans l'analyse PRINQUAL, les isoenzymes de la LDH ne sont pas exprimés en pourcentage, mais en UI/l.

a - Analyse discriminante descriptive, toutes variables réunies

Nous avons proposé comme variables discriminantes : Age - PV - PC - VIAN - AspAT - AlAT - CK - ALD - LDH₁ - LDH₂ - LDH₃ - LDH₄ - LDH₅ - GPCu - GPsg - Se - NumG. L'analyse discriminante a alors sélectionné les variables Se et PV comme permettant le meilleur classement. Les résultats de l'analyse sont présentés au tableau 26.

Variables choisies successivement pour discriminer les groupes.	Pourcentage de classification correcte obtenu après avoir appliqué les fonctions discriminantes aux valeurs de l'essai.		
	"Se -"	"Se +"	"Se ++"
1 : Se	100	53	83
2 : Se + PV	100	93	93

Tableau 26 : Variables retenues et pourcentages de classification correcte des animaux par l'analyse discriminante (toutes variables réunies).

- En choisissant les variables Se et PV, nous discriminons de façon optimale 94,2 % des animaux.

- Les fonctions discriminantes sont alors :

Avec la 1ère variable retenue : Se plasmatique.

$$\left\{ \begin{array}{l} K \text{ Se } ++ = 40,85991 \text{ Se } - 11,36290 \\ K \text{ Se } + = 18,81369 \text{ Se } - 3,27473 \\ K \text{ Se } - = 7,72608 \text{ Se } - 1,46560 \end{array} \right.$$

Avec les variables Se plasmatique - PV.

$$\left\{ \begin{array}{l} K \text{ Se } ++ = 46,05708 \text{ Se } + 0,23332 \text{ PV} - 89,54205 \\ K \text{ Se } + = 24,70621 \text{ Se } + 0,23453 \text{ PV} - 103,77310 \\ K \text{ Se } - = 12,35683 \text{ Se } + 0,20789 \text{ PV} - 63,53188 \end{array} \right.$$

- Prenons l'exemple de la vache 203, sa valeur en Se plasmatique est de 0,11 g/l, son poids vif de 580 kg. Pour cet animal nous calculons :

$$\left\{ \begin{array}{l} K \text{ Se } ++ = 50,84982 \\ K \text{ Se } + = 52,37198 \\ K \text{ Se } - = 58,40357 \end{array} \right.$$

La valeur la plus forte attribue cet animal au groupe correspondant en K, en l'occurrence ici, la vache 203 appartient au groupe "Se -".

Il est intéressant de constater que le sélénium dans cet essai est la variable qui classe le mieux les animaux entre eux. Par ailleurs, à elle seule la variable Se plasmatique permet de classer correctement à l'aide de la fonction discriminante déterminée 100 % des animaux de l'élevage 2 dans le groupe "Se -".

b - Utilisation de l'analyse discriminante pour le diagnostic d'une "déficience" en sélénium : Analyse discriminante prospective sans la variable sélénium plasmatique

Nous ne pouvons pas affirmer sur le plan biochimique que les animaux de l'élevage 2 sont déficients en sélénium. Cependant, nos commémoratifs d'élevage (problèmes chez les jeunes) permettent de le supposer.

Outre la variable Se, nous éliminerons les variables Age - PV - PC et VIAN pour ne garder que les composantes enzymatiques et rechercher parmi celles-ci les plus représentatives d'un état de carence ou subcarence en sélénium, considérant que celui-ci est coûteux et difficile à doser au niveau du plasma.

Les résultats de l'analyse sont consignés au tableau 27.

- En choisissant les variables GPsg - AspAT - LDH₃ - LDH₂ nous classons de façon optimale 90,4 % des animaux. Les fonctions discriminantes sont alors :

$$\left\{ \begin{array}{l} K \text{ Se } ++ = 0,00452 \text{ GPsg} + 1,60725 \text{ AspAT} + 0,00103 \text{ LDH}_3 + 0,00030 \text{ LDH}_2 \\ \quad \quad \quad - 47,71704. \\ K \text{ Se } + = 0,00276 \text{ GPsg} + 1,61132 \text{ AspAT} + 0,00007 \text{ LDH}_3 + 0,00066 \text{ LDH}_2 \\ \quad \quad \quad - 46,06719. \\ K \text{ Se } - = 0,00121 \text{ GPsg} + 1,19439 \text{ AspAT} + 0,00013 \text{ LDH}_3 + 0,00075 \text{ LDH}_2 \\ \quad \quad \quad - 30,55537. \end{array} \right.$$

- En l'absence de la variable Se, la GPsg est la variable qui discrimine le mieux les animaux entre eux dans cet essai ; en particulier, à elle seule elle classe correctement 100 % des animaux de l'élevage 2 dans le groupe "Se -".
Les fonctions discriminantes sont alors :

$$\begin{cases} K \text{ Se } ++ = 0,00239 \text{ GPsg} - 4,69671 \\ K \text{ Se } + = 0,00119 \text{ GPsg} - 1,99928 \\ K \text{ Se } - = 0,00040 \text{ GPsg} - 1,19977 \end{cases}$$

Reprenons l'exemple de la vache 203, la valeur de sa GPsg est de 466 UI/l, nous calculons :

$$\begin{cases} K \text{ Se } ++ = - 3,58297 \\ K \text{ Se } + = - 1,44740 \\ K \text{ Se } - = - 1,01337 \end{cases}$$

La valeur la plus forte attribue cet animal au groupe correspondant en K. En l'occurrence, nous confirmons ici que la vache 203 appartient au groupe "Se -".

- Lorsque nous faisons varier GPsg, nous constatons que les vaches ayant une GPsg < 1012 UI/l sont classées dans le groupe "Se -", celles ayant une GPsg appartenant à l'intervalle (1012 - 2248) sont classées dans le groupe "Se +", enfin celles ayant une GPsg > 2248 UI/l appartiennent au groupe "Se ++".

Ces limites ne peuvent cependant pas être considérées définitivement comme caractéristiques d'un "seuil pathologique" à l'issue de cette seule étude.

C - Discussion

L'étude d'un état nutritionnel chez les ruminants dans la pratique se heurte toujours à de nombreuses difficultés :

- Précisions relatives de l'estimation de la ration,
- Mauvaise connaissance des valeurs biologiques "normales" ou "pathologiques",
- variabilité individuelle, etc...

Nous avons voulu aborder ici l'étude du problème de l'apport en sélénium chez les vaches allaitantes en sélectionnant six élevages distribuant des rations de richesses très variables en cet oligoélément.

Sur dix animaux de chaque élevage, nous avons mesuré de nombreux paramètres biochimiques et baryométriques dans l'espoir de compenser la relative faiblesse de taille de l'échantillon par la satiété de renseignements recueillis pour chaque individu. Cette approche nous a conduit à décrire l'ensemble des résultats obtenus grâce aux statistiques multivariées qui permettent l'étude de nombreuses variables ensemble.

Les faits, tendances et observations que nous allons à présent discuter doivent toutefois être considérés avec prudence du fait même de la modicité de notre échantillon par rapport aux variations individuelles enregistrées.

L'étude des variations des niveaux enzymatiques nécessiterait des commémoratifs cliniques plus approfondis sur chacun des 60 animaux étudiés. Nous avons néanmoins été amené à faire les observations suivantes :

- Bien que les animaux de l'élevage 2 reçoivent une alimentation pauvre en sélénium et que ceux des élevages 3 et 4 soient à la limite des besoins estimés pour les bovins (LAMAND, 1965), aucune augmentation notable des activités sériques de l'AspAT, l'AlAT, la CK, l'ALD, la LDH et de ses isoenzymes (LDH₁, LDH₄, LDH₅) n'a été observée. Ceci suggère l'absence de troubles lésionnels réels liés à une carence en Vit. E et/ou Se.

Par ailleurs, nous n'avons pas pu détecter par une élévation du taux de CK des mères d'animaux malades, notamment dans l'élevage 2 où sévit la myopathie dyspnée chez les jeunes. Ceci ne confirme pas les hypothèses de MARGUIN, 1970 et MOUTHON et Coll., 1972.

- L'évolution non concomitante des différents paramètres sanguins indique probablement d'autres affections tissulaires que l'atteinte spécifique du muscle. L'opposition entre les isoenzymes LDH₁ et LDH₂ pourrait révéler des affections rénales (lors du Pic LDH₁) ou hépatiques (lors du Pic LDH₂). Ainsi par exemple, à l'échelon individuel l'animal 403 présente un fort pourcentage en LDH₂ ainsi qu'une légère élévation des transaminases, peut-être faut-il mettre ces variations

en rapport avec une atteinte hépatique sachant que cet animal appartenant à l'élevage 4 reçoit chaque jour une ration hautement énergétique à base d'ensilage de maïs, cette dernière ayant des répercussions à court et moyen terme sur le parenchyme hépatique. Inversement, les animaux de l'élevage 2 présentent des activités LDH₂ et transaminases faibles, le foie de ces animaux n'étant pas aussi sollicité par un régime de "forçage". L'élévation des LDH₁ et LDH₂ chez les éleveurs 5 et 6 pourrait avoir, entre autres causes, l'abus thérapeutique entraînant une certaine toxicité hépatique et rénale.

Il eu été intéressant en l'absence de commémoratifs précis de nous attacher à l'étude des rapports ALAT/AspAT (LAMAND, 1975) ; AspAT/CK (BICHARDT, 1969) afin de détecter et de différencier d'éventuelles affections musculaires ou hépatiques.

Il semble que la variabilité des données enzymatiques puissent être liée à différents facteurs de variation difficiles à contrôler. Notons les activités très irrégulières de la CK, peut être pouvons nous évoquer comme le suggère BOUDON, 1968 l'influence du mode d'élevage chez les bovins charolais, "forcés" du point de vue alimentaire. L'aldolase possède un taux plus élevé dans chacun des 6 élevages considérés (x2 ou x3) comparé à ceux donnés par la littérature. Il est possible, ainsi que l'on montré DZIEWIECK et Coll. 1979, de rattacher cette élévation à une variation saisonnière, l'activité ALD étant plus élevée chez les bovins en hiver (Nos prélèvements ont été effectués au mois de janvier).

- La congélation pourrait avoir un effet néfaste sur l'activité de la LDH et de ses isoenzymes. De plus, il semblerait d'après l'étude des migrations électrophorétiques, que les fractions moléculaires de la LDH des bovins soient différentes de celle de l'homme. Ceci mériterait confirmation.

Notons que la consommation d'ensilage (Eleveurs 1 - 3 - 4 - 5 - 6) comparé à une alimentation au foin (Eleveur 2) n'influe pas sur l'activité LDH₁, ceci contredit les données de HAGEMEISTER et Coll. 1968.

Si la LDH₁ ne peut différencier les 6 élevages entre eux, quelques remarques peuvent être faites à propos de ses isoenzymes. D'une manière générale, LDH₁ a un pourcentage d'activité beaucoup plus élevé que ceux donnés par la littérature, et ce aux dépens de la LDH₃, LDH₂ est conforme aux références bibliographiques (AGRESTI et Coll. 1971 - PRASE, 1969 - VAGHER et Coll. 1973). L'explication de cette variation reste à déterminer : facteur racial, facteur saison, facteur congélation ?. De plus, les oppositions LDH₁ - LDH₂, LDH₁ - LDH₃, LDH₁ - LDH₄ laissent suggérer que l'augmentation des isoenzymes 2 - 3 - 4 se fait aux dépens de l'isoenzyme majeur LDH₁.

Enfin l'absence de LDH₅ dans tout l'échantillonnage pourrait bien aller en faveur de l'existence d'un facteur d'inactivation de la LDH₅ dans le sang, ainsi que l'ont montré NEALSON et Coll. en 1979.

- Nous avons remarqué que les taux des transaminases plasmatiques AspAT et AlAT étaient d'autant plus élevés que les poids respectifs des bovins étudiés étaient plus lourds. Ceci confirme les travaux de BOOTS et Coll. 1969. De plus, toutes valeurs enzymatiques (LDH₂ exceptée) sont les plus faibles chez les animaux les plus légers. L'ensemble de ces résultats pourrait suggérer un métabolisme plus intense chez les bovins "lourds".

- Retenons dans notre essai les activités enzymatiques moyennes mesurées sur 60 vaches allaitantes charollaises, ainsi que leurs valeurs limites. Tableau 28.

Variables	Moyennes	Limites			
		Mini	$\bar{X} - 2\sigma$	Maxi	$\bar{X} + 2\sigma$
AspAT (UI/l)	38,72	28	25,88	52	51,56
AlAT (UI/l)	17,24	12	14,56	24	19,92
CK (UI/l)	23,22	11	3,52	62	42,92
ALD (UI/l)	46,78	5	0,0	101	101,54
LDH ₁ (UI/l)	1136,60	832	796,60	1893	1476,60
LDH ₁ (%)	70,36	56	60,36	84	80,36
LDH ₂ (%)	21,66	13	12,18	31	31,74
LDH ₃ (%)	6,50	2	1,96	11	11,04
LDH ₄ (%)	1,46	0,0	0,0	5	3,32
LDH ₅ (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tableau 28 : Valeurs moyennes des activités enzymatiques mesurées sur 60 vaches allaitantes charollaises.

Le "débroussaillage barymétrique" n'ayant conclu au calcul approché de la masse maigre, nous n'avons pu exprimer les activités enzymatiques en fonction de leur substrat au risque d'en biaiser les interprétations. Sur la base d'une étude purement zootechnique, il serait possible d'élucider des variations enzymatiques laissées ici sans réponse.

De ceci résulte que l'utilisation diagnostique des enzymes tissulaires témoins d'une carence en Vit.E/Se est très influencée par les facteurs de variation intervenant sur l'échantillonnage (mode d'élevage, poids des animaux, saison, méthode de dosage, pathologie annexe). Le dépistage enzymatique de cette affection nécessiterait de maîtriser parfaitement tous "ces

artefacts" zootechnique, biologique et biochimique. Enfin, ayant indiscutablement une valeur diagnostique dans le cadre des myodystrophies musculaires cliniques (LAMAND, 1975 - MOUTHON et Coll. 1972), la mesure des activités AspAT, AlAT, CK, ALD et LDH reste discutée quant aux affections subcliniques.

L'étude du Se alimentaire, du Se plasmatique et des activités GSH.Px nous a permis de dégager quelques orientations de travail :

- Les valeurs moyennes en Se plasmatique, ainsi que les activités de la peroxydase du glutathion mesurées dans le culot de centrifugation et dans le sang total sont semblables à celles données par GENIN en 1979 - Tableau 29.

Variables	moyennes	Limites			
		Mini	$\bar{X} - 2\sigma$	Maxi	$\bar{X} + 2\sigma$
GSH.Px cu (UI/l)	2481,68	858	0	7073	5609,48
GSH.Px sg (UI/l)	2242,66	159	0	7385	5217,92
Se plasmatique (g/l)	0,36 (5)	0,07	0	0,82	0,76

Tableau 29 : Activités GSH.Px cu et GSH.Px sg mesurées sur 60 vaches allaitantes charollaises, ainsi que leurs taux plasmatiques en sélénium.

- Nous avons vérifié l'existence du lien étroit entre le Se plasmatique et l'activité de la GSH.Px. Par ailleurs, ne connaissant pas l'activité du Se plasmatique, l'analyse discriminante a montré que la GSH.Px mesurée dans le sang total permettait de classer 100 % des animaux "déficients" en sélénium. En établissant les fonctions discriminantes, cette analyse peut avoir une résonance pratique :

Il sera en effet intéressant de doser la GSH.Px du sang lors du dépistage des carences ou subcarences en Se chez les bovins. Ce dosage étant de réalisation plus facile que celui du Se plasmatique.

Le sang total apparaît dans ce travail comme étant le meilleur substrat pour mesurer l'activité de la GSH.Px. Ceci va à l'encontre des résultats énoncés par GENIN (1979). pour qui la GSH.Px du culot de centrifugation semblait le reflet le plus probable de la teneur en Se plasmatique. Ce pose alors le problème du choix du substrat optimal dans la méthode de dosage de PLAGIA et VALENTIN.

- Il existe une relation positive linéaire entre le sélénium alimentaire et le sélénium plasmatique (résultat déjà énoncé par KU et Coll., 1972). L'analyse alimentaire montre que l'élevage 2 est carencé en

sélénium, les élevages 3 et 4 sont à la limite des besoins en cet oligoélément.

Pourtant, cette étude ne révèle ni subcarence, ni carence sur les 60 animaux étudiés ; plus encore, la variable sélénium plasmatique en opposant l'élevage 6 aux autres élevages confirme qu'il s'agit plus d'un "excès" d'apport en Se que d'une réelle "carence". D'où la mise en question du seuil de rationnement en sélénium (0,1 ppm) habituellement formulé pour les bovins.

- Le sélénium alimentaire est lié à l'activité GSH.Px du sang et du culot de centrifugation. Ceci confirme les données de ALLEE et Coll. 1975 - HOFFMANN et Coll. 1978 - ARTHUR et Coll. 1979.

Il est possible de penser, comme le suggère OH et Coll. 1976 chez le mouton que des teneurs croissantes en sélénium plasmatique puisse entraîner un seuil de saturation en GSH.Px chez les bovins. Or, au cours de notre essai, les mesures de l'activité GSH.Px n'ont permis ni de définir une notion de teneur minimale en sélénium plasmatique (déterminant ainsi directement la bonne couverture des besoins en sélénium alimentaire), ni d'établir une saturation de l'activité de cet enzyme malgré des teneurs régulièrement croissantes en sélénium alimentaire (Elevages 2 - 3 - 4 - 1 - 5 - 6). Ce plateau d'activité GSH.Px pourrait se situer pour des apports en sélénium nettement supérieurs à ceux étudiés dans ce travail.

Nous avons néanmoins constaté (OMAYE et TAPPEL l'avaient également remarqué chez le rat en 1974) l'évolution parallèle et croissante des apports en Se alimentaire, des taux de Se plasmatique et des activités GSH.Px. Il est possible d'émettre l'hypothèse que le sélénium plus qu'un simple cofacteur passif entrant dans la constitution de la molécule de GSH.Px puisse être un véritable activateur de la synthèse de cette molécule. En effet, il est important de souligner que l'activité GSH.Px sg augmente toujours pour des valeurs de sélénium sanguin nettement supérieures à celles d'un état subcarentiel (cas de l'élevage 6). Ainsi, pour le pathologiste, ce qui compte c'est surtout la valeur minimale en GSH.Px sg qu'il doit considérer comme "normale". Cette valeur minimale peut être estimée à partir de l'analyse discriminante.

Dans notre étude, la discordance entre éleveurs (peut être liée à la faiblesse de notre échantillonnage) condamne toute tentative de modélisation sérieuse entre le sélénium alimentaire, le sélénium plasmatique et la GSH.Px. Ceci évoque la nécessité d'une expérimentation précise, portant sur un lot homogène et important d'animaux (poulets, agneaux ou veaux) afin d'établir une réponse Se sanguin, GSH.Px sg, GSH.Px cu, mais aussi ALD, LDH, AspAT, AlAT, CK en fonction de l'apport alimentaire en sélénium. Il serait alors possible de déterminer le seuil de GSH.Px pour lequel la couverture en sélénium alimentaire est satisfaisante, et en corol-

laire le niveau pathologique de carence en Se tout en suivant l'évolution des activités enzymatiques témoins des lésions observées. On montrerait également dans quelle mesure le sélénium plasmatique active-t-il la synthèse de GSH.Px chez les animaux dont on connaîtrait au préalable l'activité GSH.Px.

Une connaissance plus approfondie de la physiologie de la peroxydase du glutathion, notamment son lien de synthèse et le rôle du sélénium dans cette molécule (plastique, catalytique ou activateur) complétée par une méthode de dosage standardisée et fiable permettrait sans doute également d'expliquer des résultats souvent hypothétiques et parfois contradictoires selon les auteurs.

CONCLUSIONS

L'évolution des affections résultant d'une carence en vit. E - Se est souvent occulte. L'atteinte élective des membranes biologiques entraîne une libération importante d'enzymes témoins du dysmétabolisme. Aussi, le diagnostic de cette maladie peut être établi au mieux en déterminant les taux plasmatiques d'enzymes spécifiques d'une atteinte musculaire. Une information diagnostic supplémentaire est apportée par la mesure de l'activité de la peroxydase du glutathion (GSH.Px) : Enzyme "traceur" d'un état de carence en sélénium.

A ce propos, nous avons conduit un travail sur des vaches allaitantes charollaises recevant des rations de teneurs différentes en sélénium. Nous avons été amené à faire les observations suivantes :

- L'utilisation diagnostique des enzymes aspartate aminotransférase (AspAT), alanine aminotransférase (AlAT), aldolase (ALD), lacticoxydeshydrogénase (LDH) et ses isoenzymes, créatine kinase (CK) apparaît peu fiable dans cet essai pour le dépistage des myodystrophies nutritionnelles subcliniques, en raison de l'importance des facteurs de variation intervenant sur ces enzymes.

- Si le sélénium plasmatique reflète l'apport nutritionnel en sélénium chez les bovins, nous avons également montré que la mesure de l'activité de la GSH.Px dans le sang total plus que dans le culot de centrifugation pouvait témoigner d'une part de la teneur en sélénium dans l'organisme, d'autre part du niveau alimentaire en cet oligoélément. Ceci laisse entrevoir une utilisation pratique de cette sélénioenzyme puisqu'elle permet d'estimer l'état de carence plus ou moins avancé d'un animal.

Néanmoins, au terme de ce travail nous devons insister sur la nécessité d'une expérimentation plus précise mettant en évidence, par la mesure de l'activité de la peroxydase du glutathion, le seuil pathologique de carence en sélénium et le niveau optimal de couverture des besoins en sélénium alimentaire.

Vu :

LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon.

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

de l'École Nationale Vétérinaire.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

J. BERTHIAUX

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 26 NOV. 1981

Pour le Président de l'Université LYON I
Le Premier Vice-Président,
Président du Comité de Coordination



A N N E X E S

N° code ELEV	N° code vache	Age	PV kg	PC kg	VIAN kg	ASPAT VI/1	AIAT VI/1	CK VI/1	ALD VI/1	LDT VI/1	LD1 %	LD2 %	LD3 %	LD4 %	GPCU VI/1	GPsg VI/1	SE g/l	HEM %	NUMG H
1	101	6	750	382	267	48	18	21	67	1176	75	20	5	0	1166	0	0.390	22.7	6.85
	102	8	650	325	228	36	19	11	78	832	84	14	2	0	1632	1478	0.480	42.2	9.50
	103	7	650	338	237	36	19	15	42	892	73	20	6	1	1240	3189	0.440	44.1	9.41
	104	5	680	360	252	38	20	22	38	1893	73	21	5	1	1790	1632	0.330	41.5	8.34
	105	8	650	325	228	38	13	23	57	1051	74	19	5	2	1632	2723	0.510	38.6	7.41
	106	10	700	378	265	43	22	12	16	1395	68	22	8	2	1632	1944	0.330	44.1	8.79
	107	10	680	360	252	44	13	27	80	1450	67	21	11	1	1944	2257	0.360	42.9	7.08
	108	7	700	378	265	46	22	21	49	1096	76	14	5	5	1478	2410	0.420	40	7.19
	109	7	620	316	221	47	18	18	16	961	74	13	8	5	1478	2723	0.320	35.8	6.98
	110	6	750	413	289	48	20	19	40	1255	67	21	9	3	1632	2257	0.350	47.1	8.70
2	201	9	650	345	242	38	18	12	129	1121	63	29	7	1	1324	0	0.140	34.8	6.35
	202	9	580	296	189	36	16	21	72	1056	64	29	6	1	1478	312	0.110	27.1	5.88
	203	9	580	296	189	30	20	17	21	1121	67	28	4	1	1166	466	0.110	32.9	6.37
	204	9	620	322	213	31	14	15	8	1176	71	24	4	1	1790	159	0.100	33.8	6.76
	205	9	620	316	209	28	16	23	10	1156	65	27	7	1	1166	466	0.080	31.3	6.48
	206	9	580	307	215	29	19	22	10	1215	61	30	8	1	1944	466	0.110	33.3	6.13
	207	9	590	307	203	29	15	17	30	1116	79	16	4	1	1632	466	0.070	33.8	7.12
	208	9	610	317	209	36	16	22	34	1136	75	21	3	1	1944	779	0.090	40	7.12
	209	9	580	302	199	31	20	18	10	1161	68	28	3	1	1632	932	0.090	37.5	7.38
	210	9	580	302	199	31	15	11	13	1056	70	26	3	1	12877	0	0.080	31.3	6.04
3	301	4	610	324	227	46	14	23	12	1215	60	26	12	2	1324	0	0.130	32.9	7.12
	302	5	640	333	233	30	15	14	8	1096	75	19	5	0	1632	0	0.160	39.5	6.78
	303	4	680	307	215	26	15	18	21	1215	61	28	10	1	1478	0	0.150	44.2	8.96
	304	4	620	329	230	36	15	12	39	1166	72	18	9	1	1632	699	0.200	41.4	7.18
	305	10	700	364	255	34	13	23	63	1370	73	20	6	1	1319	2257	0.110	40	6.98
	306	8	800	424	297	30	16	23	23	1106	76	18	5	1	1319	1012	0.160	41.7	7.47
	307	9	700	364	255	36	19	32	32	1285	67	28	4	1	1012	1632	0.130	37.2	8.84
	308	7	730	402	281	34	12	11	16	1100	72	24	3	1	2252	2877	0.220	41.4	6.98
	309	11	680	340	238	42	19	12	61	1091	0	0	0	0	1944	1166	0.150	37.7	6.75
	310	5	630	334	234	30	17	29	53	1450	0	0	0	0	2410	858	0.140	45.7	7.98

Tableau A 1a : Résultats bruts.

N°	N° code vache	Age	PV kg	PC kg	VIAN kg	AspAT VI/1	ALAT VI/1	CK VI/1	ALD VI/1	LDT VI/1	LD1 %	LD2 %	LD3 %	LD4 %	GPCU VI/1	GPSg VI/1	SE g/l	HEM %	NUNG -M-
4	401	9	920	478	335	48	14	22	26	1046	70	24	5	1	2564	1790	0.420	42.8	6.70
	402	9	750	412	297	41	17	25	58	1136	70	25	4	1	4587	2410	0.420	39.4	7.94
	403	9	900	477	334	48	20	19	49	1116	73	21	4	2	1632	2564	0.240	34.4	6.98
	404	9	740	370	259	43	17	21	61	1121	70	26	3	1	1324	1478	0.110	41.7	8.36
	405	9	670	355	234	42	22	23	41	1385	63	31	5	1	858	858	0.270	46.2	11.26
	406	9	830	457	329	52	18	18	81	1011	64	27	8	1	1166	858	0.090	53.3	9.52
	407	9	760	410	287	40	20	38	40	1195	64	29	6	1	1944	1012	0.270	39.1	7.58
	408	9	720	360	238	46	16	14	43	1006	70	23	6	1	1478	1012	0.230	40.3	8.06
	409	9	780	421	295	48	26	22	25	1106	72	22	5	1	1324	1166	0.270	50	9
	410	9	700	350	245	46	24	33	14	1141	73	22	4	1	1944	1012	0.330	40.6	8.46
5	501	7	640	334	221	46	18	25	19	1220	71	19	8	2	1324	2410	0.460	43.5	7.54
	502	8	680	331	219	50	14	21	57	967	77	15	6	2	858	1632	0.540	41.8	16.84
	503	4	690	354	234	40	19	23	22	1225	73	18	8	1	1790	2257	0.410	50	10.78
	504	11	700	344	227	42	13	17	65	987	75	16	8	1	1324	2410	0.530	38.9	8.36
	505	6	630	291	186	38	19	23	97	1171	70	21	8	1	1944	2410	0.400	41.2	8.58
	506	5	650	352	243	38	17	56	5	1320	67	21	10	2	1790	2257	0.480	41.2	6.44
	507	4	620	334	234	36	16	25	67	1146	72	19	7	2	2723	4429	0.500	47.1	6.82
	508	8	610	299	198	46	17	22	39	1071	69	20	9	2	2098	3343	0.510	46.9	10.30
	509	7	720	383	268	36	17	62	96	1021	73	15	8	3	2877	2877	0.520	50	8.78
	510	8	680	369	259	35	12	25	24	907	80	14	5	1	2257	2257	0.410	45.5	7.82
6	601	8	650	331	218	40	18	18	101	1300	65	25	8	2	3963	3189	0.540	41.4	11.14
	602	13	610	273	175	50	18	12	39	937	72	19	8	1	4122	3031	0.430	44.1	7.86
	603	6	620	311	205	40	22	26	69	981	72	21	6	1	6453	3031	0.820	52.9	9.34
	604	11	630	310	202	36	14	25	58	1290	66	26	7	1	5362	5054	0.650	49.3	8.08
	605	11	670	330	218	38	17	25	98	952	66	24	9	1	5054	5051	0.510	44.9	8.06
	606	6	580	279	179	34	19	19	23	1156	64	26	8	2	5828	7385	0.650	41.4	7.40
	607	5	630	319	210	28	19	28	83	1091	69	23	7	1	4895	5520	0.700	41.4	8.10
	608	8	710	363	240	37	13	32	84	1061	56	31	11	2	7073	4742	0.730	0	7.40
	609	5	610	317	219	32	18	19	60	1180	73	17	9	1	5208	2410	0.620	0	7.78
	610	4	700	376	263	34	19	44	77	1086	68	20	10	2	4588	1166	0.620	0	10.14

Tableau A 1b : Résultats bruts.

ANALYSES DE VARIANCES

=====

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de variance (Test F)	significat.
"Effet élevage"	175714,87	5	35142,97	13,38	THS
"Erreur"	141849,89	54	2626,84		
total	317564,75	59			

Tableau A2 : PV

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de variance (Test F)	significat.
"Effet élevage"	1305,08	5	261,01	10,56	THS
"Erreur"	1335,09	54	24,72		
Total	2640,18	59			

Tableau A3 : AspAT

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de variance (Test F)	significat.
"Effet élevage"	8833,74	5	1766,74	2,37	S
"Erreur"	40335,85	54	746,96		
Total	49169,59	59			

Tableau A⁴ : ALD

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de variance (Test F)	significat.
"Effet élevage"	95,49	5	19,1	4,49	THS
"Erreur"	220,99	52	4,25		
Total	316,49	57			

Tableau A₅ : LD₃

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de variance (Test F)	significat.
Effet élevage"	7,60	5	1,52	2,07	S
"Erreur"	38,27	52	0,73		
Total	45,87	57			

Tableau A6 : LD4

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport des variance (Test F)	significat.
Effet élevage"	—	5	20504976	40,32	THS
" Erreur"	—	54	508550		
Total	—				

Tableau A7 : GPcu

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de variance (Test F)	significat.
"Effet élevage"		5	13767369	14,59	THS
"Erreur"		48	943908		
Total		53			

Tableau A₈ : GPsg

Source	somme des carrés	degrés de liberté	variance	rapport de rapport de (Test F)	significat.
"Effet élevage"	2,019	5	0,4040	72,06	THS
"Erreur"	0,302	54	0,0056		
Total	2,322	59			

Tableau A₉ : Se

Remarque : "Effet élevage" = comparaison de variance entre les élevages.
"Erreur" = étude de la variance au sein de chaque élevage.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - AGAR (N.S), 1979 - Enzyme activities in the red blood cells of saanen and angora goats - Comp. phys. bioch. 64, 239 - 240.
- 2 - AGNES (F), GENCHI (C), SIMONIC (T), 1972 - Troubles physiologiques du bétail après transport. Clinica vét. 95, 97 - 101.
- 3 - AGRETI (A), PERSECHINA (A), MASTRANGELO (P), 1971 - Behaviour of serum lactate deshydrogenase and its isoenzymes in normal cattle - Act. Méd. vét. 17, 483 - 492.
- 4 - ALLEN (N.M), PARR (N.H), ANDERSON (P.H), BERRETT (S), BRADLEY (R), PATTERSON (DS.P), 1975 - Sélénium et activité de la glutathion peroxydase dans les globules rouges de bovins - Vét. réc. 96, 360 - 361.
- 5 - ALVIN (C), CHAN (C), EUGENE ALLEN, VINCENT (P), HEGARTY (J), 1980 - The effects of vitamin E depletion and repletion on prostaglandus synthesis in semitendinosus muscle of young ra bits - Journal of nutrition 110, 66 - 81.
- 6 - ANDERSON (P.H), PATTERSON (DS.P), 1977 - Glutathione peroxydase in ruminants and susceptibility to nutritional myopathy - Conf. production disease in form animal. Publ. centre for agricultural publishing and documentation, wageningen the Netherlands - 129.
- 7 - ARNOLD (H), PETTE (D), 1968 - J. Biochem (Berlin) 612, 163 - 171.
- 8 - ARTHUR (J.R), PRICE (J), MILLS (E.F), 1979 - Observations on the selenium status of cattle in the north-east of scotland - Vét. Réc. 104, 340,- 341.
- 9 - BENESCH (R.E), LARDY (H.A), BENESCH (R), 1955 - J. Biol. Chem. 216, 633.
- 10 - BERMAN (M.C), DUTOIT (P), KENCK (J.F), 1971 - South African Médical Journal, 45, 1208 - 1209.
- 11 - BICKHARDT (D.T), 1969 - Ein enzymatisches verfahren zur erkenntung von Muskel schäden beim Lebenden Schwein - Tier. Wschr. 76, 601 - 604.
- 12 - BLINCOE (C), MARBLE (D.W), 1960 - Blood enzyme interrelation ships in white muscle disease - Am. J. Ultr. Research. 21, 36.
- 13 - BOARD (P.C), PETERS (D.W), 1976 - A simple test for glutathione peroxydase and selenium deficiency - Vét. Rec. 99, 144 - 145.
- 14 - BOGUTH (W), SERNETZ (M), 1968 - Int. Z. Vitaminforsch. 38, 320 - 327.
- 15 - BOKDAWALA (F.D), GEORGES (J.C), 1969 - J. Neurol. Sc (Amst.) 913, 443 - 448.

- 16 - BOOTS, CRITZ, DAVIS, LUDWICK, 1969 - Effets of age, body weight stage of gestation and sex on plasma GOT and GPT activities in immature Holstein cattle - J. Dairy Sci. 52 211 - 216.
- 17 - BOTTIN (J.L), 1977 - Consommation maximale d'oxygène et données biochimiques de deux groupes d'écoliers âgés de 11 et 16 ans pratiquant ou non une activité sportive - Thèse doct. méd. Lyon 1977.
- 18 - BOUDON (J.C), 1968 - Détermination de l'activité de la CPK dans le sérum des bovins - Thèse doct. vét. Lyon 1968.
- 19 - BOULANGER (P), POLONOVSKI (M), TAYEAU (F), MANDEL (P), BISERTI (G), 1971 - Biochimie médicale (t. III) 117 - 118.
- 20 - BOWMAN (W.C), MARSHALL (I.G), 1971 - In physiology and biochemistry of the domestic fowl - Acad. Press. 731 - 738.
- 21 - BOYD (J.W), 1962 - The comparative activity of some enzymes in sheep cattle and rats. Normal serum and tissu levels and changes during experimental liver necrosis - Rés. vét. Sci. 3, 256 - 268.
- 22 - BUCHANAN (S), SMITH (J.G), NELSON (E.C), TILLMAN (A.D), 1969 - Effect of vit E and Se deficiencies on lysosomal and cytoplasmic enzymes in the sheep tissue - J. Nutrit. 99 387.
- 23 - BRADY (P.S), BRADY (L.J), PARSONS (M.J), ULLREY (D.E , MILLER (E.R), 1979 - Effects of riboflavin deficiency on growth and glutathione peroxidase system enzymes in the baby pig - Journ. of Nutr. 109 1615 - 1622.
- 24 - CAO (A), DE VIRGILIS (S), DE MARCO (A), LIPPI (C), LEON (P), 1970 - Muscle diseases, bu Walton, canal, scarlato. Excert. Méd. 259 - 300.
- 25 - CA LE (I.W), EDWARDS (S.J.A), FORSYTH, WHITELEY (P), SELTH (R.H), FULTON (L.J), 1978 - Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition - Am. Vét. J. 54 57 - 60.
- 26 - CHAN (W. WC), MOSBACH (K), 1976 - Effects of subunit interactions on the activity of lactate deshydrogenase studied in immobilized enzyme systems - Bioch. USA. 19 4215 - 4222.
- 27 - CHAUVAUX (G), LOMBA (F), FUMIERE (I), BIENFET (V), 1977 - Appréciation du niveau du sélénium sanguin par le dosage de la glutathion peroxydase - AM. méd. vét. 121 11 - 115.
- 28 - CHAVEZ (E.R), 1979 - Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in piglets - Can. J. Anim. Sci. 59 67 - 75.

- 29 - CHAVEZ (E.R), 1979 - Effect of dietary selenium depletion and repletion on plasma glutathione peroxidase activity and selenium concentration in blood and body tissue of growing pigs. Can. J. Anim. Sci. 59 761 - 771.
- 30 - CHOW (R), REDDY (K), TAPPEL (A.L), 1973 - Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues - J. Nutr. 103 618 - 624.
- 31 - CHOW (C.K), TAPPEL (A.L), 1974 - Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats - J. Nutr. 104 444 - 451.
- 32 - COLOMBUS, GERBER (H), 1964 - Aktivität bestimmungen von gerum enzyemen in der veterinären medizen - Sch. Arch. Tier. 106 478 - 491.
- 33 - COMBS (G.F), 1978 - Influence de l'éthoxyquine sur l'utilisation du sélénium chez le poulet carencé en vit. E - Poultry Sci. 1 210 - 222.
- 34 - COMBS (G.F), PESTI (G.M), 1976 - Influence of ascorbic acid of selenium nutrition in the chick. J. Nutr. 106 958 - 966.
- 35 - CORBELLÀ (E), AMADASI (M), BARILLI (F), 1977 - Significato clinico dei livelli di alcuni enzimi nel cavallo - La Clinica veterinaria, 110 308 - 331.
- 36 - CORNELIUS (C.E), BURNHAM (L.G), HILL (H.E), 1963 - Serum transaminases activities of thoroughbred horses in training. J. Am. Vét. Médi. Ass. 142 639 - 642.
- 37 - CORNELIUS (C.E), BISHOP (J), SWITZER (J), RHODE (E.A), 1963 - Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. Cornel. Vét. 53 181 - 191.
- 38 - DESAULTY (E), 1977 - La LDH chez le cheval de sport - Thèse doct. vét. Alfort 1977.
- 39 - DIETER (M), 1970 - Life Sci. 301 - 311.
- 40 - DOTTA (V), ROBUTTI (B), 1972 - Folia veterinari lattina - 2 310 - 325.
- 41 - DOTTA (V), PELLIGRINO (G), 1972 - Studio dei livelli sierici della lattico-deidrogenasi e dei suoi isoenzimi in vitelli normali e in vitelli affetti da miocardio distrofia - Folio vét. Lattina. 2 865 - 888.
- 42 - DOTTA (V), ABATE (O), GUGL'IELMINO (R), ZIMMERMAN (S), PONZETTO (G), 1978 - Determinazione dell'attività della glutathione perossidasi in un gregge di pecore affetto da miopatia selenio - dipendente. Sch. Arc. Tier. 120 291 - 299.

- 43 - DUNCAN (D.B), 1965 - Biometries, 11 1 - 42.
- 44 - DZIEWIECKI (A.H) SWIERGIEL, 1979 - Seasonal changes in activity of some plasma enzymes in cattle of different breeds - Acta. Phys. Pol. 30 - 63.
- 45 - EWAN (R.C), WASTELL (M.E), 1970 - J. Anim. Sci. 31 343 - 350.
- 46 - FAUREAU (B), 1975 - Vit. E. Etude de la subcarence chez le pintadeau. Thèse doct. vét. Lyon 1975.
- 47 - FERANDO (R), 1971 - Les besoins en oligoéléments des animaux domestiques et les conséquences de leur carence. Ann. Nutr. Alim. 25 231 - 325.
- 48 - FLOHE (L), 1971 - Die Glutathionperoxidase : Enzymologie und biologische Aspekte - Klin. Wschr. 49 669 - 683.
- 49 - FRIEDLAND (R.A), KRAMER (J.W), 1970 - Use of serum enzymes as aids to diagnosis - Adv. vét. Sci. Comp. Méd. - 14 61 - 105.
- 50 - FROST (D.V), 1976 - More of the selenium saga : a report in the lund symposium - Feedstuffs April 5 55 - 58.
- 51 - GARNER (R.L), MILLS (G.C), 1951 - The degradation of hemoglobin by tissues extracts and by ascorbic acid - Fed. Proc. 10 181.
- 52 - GAROUACHI (M), 1978 - Enzymologie sémiologique chez les petits ruminants - Thèse doct. vét. Toulouse 1978.
- 53 - GENIN (F), 1979 - Diagnostic experimental de la carence en Vite et/ou Sélénium - DEA Clermont II 1979.
- 54 - GEORGE, CARDINET, 1971 - Skeletal muscle in J.J Kaneko and C.E. Cornelius - Clin. Bioch. of dom. anim. vol. III 155-157.
- 55 - GERBER (H), 1964 - Sch. Arch. Tier - 106 478 - 491.
- 56 - GERBER (H), 1966 - Aktivitätsbestimmungen von serumenzymen in in der veterinärmedizin - Sch. Arch. Tier - 108.
- 57 - GERICKE (M.D), BELANJE (C.P), 1975 - Aspect of forced exercise and the therapy thereof in sheeps - J. S. Afr. vét. Assoc. 4 353 - 357.
- 58 - GOLLNICK (P.D), ARMSTRONG (R.B), 1976 - Histochemical localization of lactate deshydrogenase isosymes in human skeletal muscle fibers - Life sciences - 18 27 - 32.
- 59 - GRAIZ (F.A), SMITH (J.C), 1967 - CPK in thyroïde isoenzyme composition compared with others tissues - Science 156 254 - 255.
- 60 - GUNDE - EGESKOV JENSEN, JORGE CLAUSEN, 1981 - GSH.Px : Activity in vitamin E and essential fatty acid. deficient rats - Am. Nutr. Métab. 25 27 37.
- 61 - GUNNAR CARLSTRÖM, GÖRAN JONSSON, 1979 - An evaluation of selenium status of cattle in sweden by means of glutathion peroxidase - Swedish J. Agr. Rec. 9 43 - 46.

- 62 - HAFEMAN (D.G) SUNDE (R.A) HOEKSTRA (W.G), 1974 - Effect of distary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat - J. Nutr. 104 580 - 587.
- 63 - HAGEMEISTER, '1968 - Individuelle, Tages und tageszeitabhngige schwankungen von blutbestandteilen beim Rind. Zenbl. Vet. Méd. 15 A 499 - 509.
- 64 - HAKKARAINEN (J), LINDBERG (P), BENGTSSON (Ja, JONSSON (L), 1978 - Serum glutathione peroxidase activity and blood selenium in pigs - Acta. vet. scand. 19 269 - 284.
- 65 - HANSEN (M.A), 1970 - Nord. ved. Méd. 617 - 630.
- 66 - HATZFELD (A), SCHAPIRA (F), 1973 - The ontogeny of aldolase in rat liver and brain - Revue Bioch. Tome L V 53.
- 67 - HOFFMAN (C), RIVINUS (B), SWANSON (L), 1978 - Effect of intramuscular administration of selenium and vit E in dairy heifers on érythrocyte glutathione peroxidase activity and blood selenium levels - J. Anim. Sci. 47 192 - 197.
- 68 - HYLDEGAARD-JENSEN (J.F), 1971 - Thels copenhagen - 221.
- 69 - HYLDEGAARD-JENSEN (J.F), 1977 - Relation entre les carences nutritionnelles et les taux enzymatiques sanguins. Importance de la vit E et du sélénium - Journée de vitaminologie, HOFFMANN-ROCHE.
- 70 - IWAMOTO (A), FUKVOKA, 1969 - Acta. Méd. 39 108 - 121.
- 71 - JACOB (H.J.S), LUX (S.E), 1968 - Dégradation of membrane phospholipids and thiols in peroxide hemolysis : Studies in vit.E deficiency - Blood 32 549 - 568.
- 72 - JAENICKE (R), KOBERSTEIN (R), TEUSCHER (K), 1971 - Europ. J. Bioch. 23 150 - 159.
- 73 - JORGENSEN (P.F), HYLDEGAARD-JENSEN (J.F), 1972 - Aasbertring Copenhagen 55 - 59.
- 74 - JORGENSEN (P.F), WEGGER (I), 1972 - Glutathione peroxidase and health in schwine - Acta. Vét. scand. 20 610 - 612.
- 75 - KAMIMURA (M), 1972 - An tiinflammatory activity of vit. E. J. vitaminol. 18 204 - 209.
- 76 - KELLER (P), 1971 - Serumenzyme beim Rind - Sch. Arch. Tierhk. 11 615 - 626.
- 77 - KELLER (P), STANDBRIDGE (T.A), 1972 - Die Verteilung der Lactat- deshydrogenase. Isoenzyme im einigen Rinderorganen. Sch. Arch. Tierhk. 125 35 - 48.
- 78 - KU (P.K), ELY (W), GROCE (A.W), ULLREY (.E), 1972 - Sélénium et tocophérol du régime - J. of anim. Sci. 34 208 - 211.

- 79 - KUBY (S.A), NODA (L.H), LARDY (W.A), 1954 - J. Biol. chem. 209 191 - 203 ; 210 65 - 83.
- 80 - KUTTLER, MARBLE (D.W), 1958 - Am. J; vét. Rés. 19 632 - 636.
- 81 - LAMAND (M), 1965 - Syndrome myopathie dyspnée ; influence de la prophylaxie par le sélénium sur la composition biochimique du plasma chez le veau - Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 5 309 - 315.
- 82 - LAWRENCE (R.A), 1976 - Glutathione peroxidase activity in sélénium déficient rat liver - Bioch. Biophys. Rés. Comm. 71 952 - 958.
- 83 - LAWRENCE (R.A), BURK (R.F), 1978 - Species, Tissue and Subcellular distribution of non Se - dépendant Glutathione.peroxidase Activity - J. Nutr. 108 211 - 215.
- 84 - LAWRENCE (R.A), CORWIN (M), SCHLOSS JANET, 1980 - Influence of vitamin E on the mitogenic response of murine lymphoids cells J. of Nutr. 11 916 - 923.
- 85 - LE CH SU (K), LUND AYAZ, SAART CSALLANY, 1979 - GSH.Px in Mouse tissues : Effect of age and dictary vitamin E. Nutr. Rep. Int. 4 461 - 467.
- 86 - LEE (Y.H), LAYMAN (D.K), BELL (R.R.), 1979 - Sélénium dépendent and non selenium dépendent glutathione peroxidase activity in rabbit tissue - Nutr. Rep. Int. 4 573 - 578.½
- 87 - LITTLE, O'BRIEN (P.J), 1968 - An Intracellular GSH-Peroxidase with a lipid Peroxide substrate : Biochem. Bioph. Rés. com. 31 145 - 159.
- 88 - LOEGERING (D), JERRY (B) CRITZ, 1971 - Effect of hypoxia and muscular activity on plasma enzyme levels in dogs - Am. J. of physiol. 220 100 - 103.
- 89 - LOUISOT (P), Fiche de sémiologie clinique - Lyon.
- 90 - MARGUIN (M), 1970 - Variation de SCPK au cours de la myopathie dyspnée des veaux limousins et charolais - Thèse doct. vét. Lyon 1970.
- 91 - MEISSONNIER (E), ROUSSEAU (P), 1976 - Les tests enzymatiques dans l'exploration fonctionnelle du foie chez les bovins - 9ème congrès intern. sur les maladies du bétail - Vol. 2 1185.
- 92 - MILLS (G.C), 1959 - The purification and propecties of Glutathione peroxidase of érythrocytes - J. Biol. Chem. 234 502 - 510.
- 93 - MOUTHON (G), 1967 - Diagnostic biochimique post et anté mortem de la myopathie dégénérative des jeunes bovins - 9ème congrès intern. sur les maladies du bétail - 1185.
- 94 - MOUTHON (G), CHANTEGRELET (G), CLUNY (D), FLACHAT (G), MAGAT(A),

- 1972 - Acitivité sérique de la CPK et de la GOT chez les jeunes bovins. Variations dans le cas de dégénérescence musculaire. Bull. soc. sci. vét. Méd. comp. Lyon - 74 55 - 61.
- 95 - MOUTHON (G), 1976 - Etude de la fluctuation de certains paramètres biochimiques sanguins avant et après abattage chez le cheval et le boeuf. Application au diagnostic expérimental d'une myopathie - Thèse Lyon 1976.
- 96 - MOUTHON (G), MAGAT (A), 1976 - Diagnostic biochimique des myopathies dégénératives des jeunes bovins - Rec. Méd. vét. 152 452 - 455.
- 97 - NEALSON (O.A), HENDERSON (A.R), 1979 - Inactivation of LDH₅ by a factor found in blood - Clin. Bioch. Canada - 6 196-197.
- 98 - NICHOL (C.J), 1964 - Clin. Chim. Acta. 9 410.
- 99 - NOGUCHI (T), CANTOR (A.H), SCOTT (M.L), 1973 - Mode of action of sélénium and vitamin E in prevention of exsudative diathesis in chicks - J. Nutr. 103 1502 - 1511.
- 100 - OH (S.H), POPE (A.L), HOEKSTRA (W.G), 1978 - Dietary selenium requirement of sheeps fed a practical type diet as assessed by tissue glutathione peroxidase and other criteria - J. Anim. Sci. 42 984 - 992.
- 101 - OKSANEN (H.E), Studies on nutritionnal muscular degeneration (N.M.D) in ruminants - Thésis, college of vét. Méd. Helsinki.
- 102 - OLIVEIRA (M.M), WEGLIICKI (W.B), NASON (A), NAIR (P.P), 1968 - Distribution of alpha tocophérol in beef heart mitochondria Bioch. Bioph. Act. 180 98 - 113.
- 103 - OMAVE (S.T), TAPPEL (A.L), 1974 - Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in the chick - J. Nutr. 104 747-753.
- 104 - PAGLIA (D.E), VALENTINE (W.N), 1967 - Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase - J. Lab. Clin. méd. 70 158 - 169.
- 105 - PATERSON (D.S.P), ALLEN (W.M), 1972 - Brit. vét. J. 128 101 - 109.
- 106 - PATRIAS (G), 1969 - Feedstuffs 8 March. 24.
- 107 - PAYARD (J), 1970 - La SCPK chez le cheval - Thèse doct. vét. Lyon.
- 108 - PETER (D.W), 1980 - Modified fluorescent spot test for glutathione peroxidase and selenium concentration in sheep blood - vét. réc. 107 193 - 196.
- 109 - PRASE (K.W), 1969 - Lactic deshydrogenase activity and isoenzyme distribution in serum of normal cattle - Am. J. Vét. Rés. 34 273 - 277.

- 110 - REDDY (K), TAPPEL (A.L), 1974 - Effect on dietary selenium and autoxidized lipids on the glutathione peroxidase system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. J. Nutr. 104 1069 - 1078.
- 111 - REISS (V), TAPPEL (A.L), 1973 - Decreased activity in protein synthetis system from liver of vitamin E ; deficient rats - Bioch. Bioph. Acta. 312 608 - 615.
- 112 - RICHY (B), 1978 - Le sélénium en élevage - Thèse doct. vét. Lyon 78.
- 113 - RICO (A.G), BRAUN (J.P), BENARD (P), 1973 - Les enzymes en biochimie médicale - Rév. médi. vét. 7.8.
- 114 - ROCHE documentation, 1979 - Aspect nutritionnel de la supplémentation des aliments composés 3 28.
- 115 - ROTRUCK (J.T), 1972 - Prévention of oxidatitve damage to rat erythrocytes byudietary selenium - J. Nutr. 102 689 - 696.
- 116 - ROTRUCK (J.T), 1973 - Sélénium : Biochemical role as a composent of glutathione peroxidase - Science 179 588 - 596.
- 117 - ROUSSEL, STALLUP, 1967 - Blood serum enzymes within the extrous cycle - J. Dairy Sci. 50 1341 - 1347.
- 118 - SCHAPIRA (F), 1967 - Variations pathologiques en rapport avec l'ontogénèse de la LDH, la CPK et l'ALD - Bull. soc. chim. Biol. 12 1655.
- 119 - SCHAPIRA (F), 1969 - Modiifcation de spécificité de l'aldolase musculaire au cours de l'atrophie expérimentale - Soc. Biol. 11 2191.
- 120 - SCHOLZ (R.W), HUTCHINSON (L.J), 1979 - Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows - Am. J. Vét. Rés. 40 245 - 249.
- 121 - SCHWARTZ (K), 1964 - Sélénium and tocophérol : what role in animal disease ? - Mod. vét. Pract. 45 59 - 63.
- 122 - SCOTT (D.L), KELLEHER (J), LOSOWSKY (M.S), 1976 - The effect of dietary selenium and vit E on glutathione peroxidase and glutathione in the rat - Bioch. Soc. Trans. 4 295 W- 296.
- 123 - SIEST (G), GALTEAU (M.M), 1974 - Variations of plasmatic enzymes during exercice - Enzymes, 17 179 - 195.
- 124 - SINJER (S+J), NICHOLSON (A), 1974 - The molecular organization of membranes - Am. Rev. Biochem. 43 805.
- 125 - SIVERTSEN (T), KARLSEN (J.T), FROSLIE (A), 1977 - The relation ship of erythrocyte glutathione peroxidase to blood selenium in swins - Acta. scand. 18 494 - 500.
- 126 - SNEDECOR (G.W), 1962 - Statistical Method - 5ème Edition

- 127 - STRAUB (R), GERBER (H), SCHATZMANN (V), 1972 - Hämatologische und Klinisch - Chemische befunde bei dexametasone Behandlung des Pferdes - Sch. Arch. Tier - 114 541 - 560
- 128 - SUTTON (R.H), 1973 - Measurement of certain plasma and serum enzymes in the horse - N. Z. Vét. J. 26 209 - 213.
- 129 - SWINGLE (J), 1958 - Am. J. Vét. Rés. 19 632 - 636.
- 130 - TENENHAUS (M), 1979 - Revue de statistique appliquée XXV, 2 39 - 52.
- 131 - TERROINE (T), 1964 - Le contrôle vitaminique des activités enzymatiques - Ann. Nutr. Alim. 18 87 - 124.
- 132 - THOMPSON (R.H), MAC MURRAY (C.H), BLANCHLOWER (N), 1976 - The levels of selenium and glutathione peroxidase activity in blood of sheeps, cows and pigs - Rescarch in Vét. Sci. 20 229 - 231.
- 133 - TINBERG (H.M), BARBER (A), 1970 - Studies on vitamin E action : Peroxidation inhibition in structural protein - Lipid micelle complexes derived from rat liver microsomal membranes - J. Nutr. 100 413 - 418.
- 134 - TOLLESRUUD (S), 1971 - Acta. vét. Scand. 12 365 - 374.
- 135 - TROCHA (P.J), 1977 - Lactate deshydrogenase isoenzymes linked to béta lipoprotéins and immunoglobulin A - Clin. chem. USA 23 - 1780 - 1783.
- 136 - TUMBLESON (M.E), BURKS (M.F), 1973 - Serum proteins concentrations, as a fonction of age in female dairy cattle - Cornel. Vét. 63 - 65 - 71.
- 137 - VAGHER (J.P), PEARSON (B), BLATT (S), KAYA (H), 1973 - Biochemical and hématologie value in male Holstein, Friesian calves - Am. J. Vét. Rés. 34 273 - 277.
- 138 - VANDENHENDE (C), MUYLLE (E), OYAERT (W), 1970 - Zentbl. vét. méd. 17 A 6 - 12.
- 139 - VINCENT (D), VER Claude Bernard - Enzymologie spéciale 7 - 51 - 52.
- 140 - WEINSTOCK (J.M), EPSTEINS (A), MILHORAT (A.T), 1958 - Proc. soc. exp. méd. 99 272.
- 141 - WHANGER (P.D), WESWING (RH), SCHMITZ (J.A), OLDFIELD (J.E), 1977 - Effects of selenium and vitamin E on blood selenium levels, tissus glutathione peroxidase activities and white muscle disease in sheep fed purified or hay diets - J. Nutr. 107 1298 - 1307.
- 142 - WILLIAMSON (J), GREENE (J), CHERIF (S), MILNER - WHITE (E.V) 1977, - Hétérogenéity of rabbit muscle créatine kinase and limited protéolysis by proteinase K - Bioch. J. G. B. , 167 731 - 737.

- 143 - WILSON (P.S), JDSON (G.J), 1976 - Glutathione peroxidase activity in bovine and ovine erythrocytes in relation to blood selenium concentration - Br. Vét. J. 132 428-434.
- 144 - WOLTER (R), 1975 - Table ronde n° 4 : L'avitaminose E. La vitamine E en alimentation. Rév Méd. Vét. 126 726-729.
- 145 - YOUNG (H), LEE (Y.H), DONALD (K), LAYMANN (D.K), BELL (R.R), 1981 - GSH.Px activity in Iron - Deficient rats J. Nutr. 111 194 - 200.

T A B L E S D E S T A B L E A U X E T S C H E M A S

- Schéma 1 : Fonctions biologiques de la VitE et du Se.
- Schéma 2 : Régénération de l'ATP hydrolysé au cours de la contraction musculaire.
- Schéma 3 : Représentation schématique des modifications vasculaires physio-pathologiques lors de carence en vit. E/Se.
- Schéma 4 : Activité de la LDH au cours de la glycolyse.
- Schéma 5 : Architecture de la membrane plasmique selon DAVSON et DANIELLI.
- Schéma 6 : Modèle de membrane selon SINGER et Coll.
- Schéma 7 : Mécanisme d'action du système glutathion peroxydase/glutathion réductase.
- Schéma 8 : Mécanisme de l'hémolyse érythrocytaire par un peroxyde.
- Schéma 9 : Mécanisme de l'action protectrice membranaire de la peroxydase du glutathion et de la Vit. E.
- Schéma 10 : Traitement des échantillons à la ferme.
- Schéma 11 : Résultats de l'analyse densitométrique de l'échantillon prélevé sur la vache 501.
- Schéma 12 : Diagramme schématique du "classement" des éleveurs.
- Schéma 13 : Moyennes indexées par éleveur.
- Schéma 14 : Histogramme par éleveur.
- Schéma 15 : Régressions Se, GPsg, et GPCu en fonction du Se consommé.
- Schéma 16 : ACP - Représentation graphique des variables après projection dans le plan F_1 F_2 .
- Schéma 17 : ACP - Représentation graphique des variables après projection dans le plan F_1 F_3 .
- Schéma 18 : ACP - Représentation graphique des animaux après projection dans le plan F_1 F_2 .

- Schéma 19 : ACP - Représentation graphique des animaux après projection dans le plan F_1 - F_3 .
- Schéma 20 : PRINQUAL - Représentation graphique des variables après projection dans le plan F_1 - F_2 .
- Schéma 21 : Projection des animaux et des modalités de la variable Eleveur sur l'Axe F_1 .
- Tableau 1 : Les manifestations de la carence nutritionnelle en vitamine E et/ou Sélénium.
- Tableau 2 : Répartition tissulaire des enzymes AspAT - AlAT - LDH - ALD et CK chez les bovins.
- Tableau 3 : Activité sérique (UI/l) de l'AspAT et de l'AlAT en fonction de l'espèce considérée.
- Tableau 4 : Signification de la mesure de l'activité des aminotransférases.
- Tableau 5 : Répartition des trois types d'aldolase A. B. C.
- Tableau 6 : Activité sérique de l'aldolase chez différentes espèces.
- Tableau 7 : Répartition tissulaire des isoenzymes LDH des bovins.
- Tableau 8 : Valeurs de référence de l'activité de la LDH sérique et de ses isoenzymes chez différentes espèces.
- Tableau 9 : Valeurs de référence de l'activité sérique de la créatine kinase chez les différentes espèces.
- Tableau 10 : Modifications de l'activité enzymatique de certaines enzymes lors de myopathies nutritionnelles chez les bovins.
- Tableau 11 : Relation entre l'activité de la GSH.Px et le stress d'oxydation causé par les acides gras polyinsaturés dans différents organes du rat.
- Tableau 12 : Activités des GSH.Px séléno-dépendantes et non séléno-dépendantes dans les fractions de foie de différentes espèces.
- Tableau 13 : Activité des GSH.Px séléno-dépendantes et non séléno-dépendantes dans les tissus du rat.
- Tableau 14 : Variation d'activité de la GSH.Px érythrocytaire et plasmatique chez le porc.
- Tableau 15 : Analyse bibliographique de la relation activité

de la peroxydase du glutathion-sélénémie chez différentes espèces.

- Tableau 16 : Rationnement et Format des animaux des 6 élevages étudiés.
- Tableau 17 : Mesure de l'activité de l'ALD : Réactifs utilisés pour le témoin et l'essai.
- Tableau 18 : Résultats comparés des activités de la LDH et de ses isoenzymes dans le plasma frais et dans le plasma congelé.
- Tableau 19 : Comparaison des valeurs moyennes des activités de la LDH et de ses isoenzymes chez les bovins étudiés et des humains souffrants d'un infarctus du myocarde.
- Tableau 20 : Moyennes, écarts types, et coefficients de variation de chacune des variables étudiées pour les animaux des 6 élevages réunis.
- Tableau 21 : Résultats moyens par éleveur et analyse de variances (Test F).
- Tableau 22 : Matrice des coefficients de corrélation pour l'ensemble des différents paramètres sanguins et du paramètre Poids Viande.
- Tableau 23 : Regressions Se, GPsg, et GPCu en fonction du Se consommé.
- Tableau 24 : Tableau simplifié des liens existants entre les variables et les différents facteurs.
- Tableau 25 : Tableau simplifié des liens existants entre les variables et les différents facteurs dans l'analyse PRINQUAL.
- Tableau 26 : Variables retenues et pourcentage de classification correcte des animaux par l'analyse discriminantes (toutes variables réunies).
- Tableau 27 : Variables enzymatiques et pourcentage de classification correcte des animaux par l'analyse discriminante prospective.
- Tableau 28 : Valeurs moyennes des activités enzymatiques mesurées sur 60 vaches allaitantes charollaises.
- Tableau 29 : Activité GSH.Px cu et GSH.Px sg mesurées sur 60 vaches allaitantes charollaises, ainsi que leurs taux plasmatiques en sélénium.
- Tableau A1 : Résultats bruts des différents paramètres mesurés sur 60 vaches allaitantes charollaises.

Tableau A2 - A9 : Analyses de variance des variables : A : PV
PV - A : AspAT - A : ALD - A : LD
A : LD - A : GPcu - A : GPsg - A : Se.

Photo 1 : Exemple de migration électrophorétique comparée : Bovin - Humain (Infarctus du myocarde).

T A B L E D E S M A T I E R E S

Introduction

1ère partie : Diagnostic enzymatique des carences et subcarences en vit E et/ou Se : Analyse bibliographique.

I - Etude de cinq enzymes témoins des lésions d'une carence en vit E et/ou Se

A - Rappels biochimiques.

1. Biochimie de la contraction musculaire.
2. Répartition des enzymes AspAT, AlAT, LDH, ALD et CK.
3. Libération et devenir des enzymes cellulaires.

Conclusion.

B - Etude analytique.

1. Les aminotransférases AspAT - AlAT.
2. L'aldolase ALD.
3. La lacticodeshydrogénase LDH et ses 5 isoenzymes.
4. La créatine kinase CK.
 - 1.2.3.4. a. Enzymes étudiées et réactions catalysées.
 - b. valeurs de référence, facteurs de variation.
 - c. intérêt clinique.

Conclusion.

II - La peroxydase du glutathion (GSH.Px) : Traceur d'un état de carence de l'organisme en sélénium

A - Rappel de la structure membranaire.

B - La GSH.Px : Enzyme et réaction catalysée.

1. Structure et stabilité de l'enzyme.
2. Réaction catalysée : application au dosage de l'activité GSH.Px.

C - Fonction physiologique de la GSH.Px.

D - Répartition tissulaire. Facteurs de variation.

1. Distribution tissulaire de la GSH.Px.
2. Facteurs de variation.

E - Intérêt clinique de la mesure de la GSH.Px dans les affections résultant d'une carence en sélénium.

Conclusion.

2ème partie : Modifications du profil enzymatique sanguin liées à une subcarence en sélénium chez la vache allaitante charollaise - Etude expérimentale.

I - Hypothèses d'étude

II - Protocole expérimental

A - Choix des animaux.

B - Barymétrie.

1. Poids vif.
2. Poids carcasse.
3. Poids viande commercialisable.
4. Masse maigre.

C - Techniques de dosage.

1. Dosage du sélénium.
2. Mesure des activités plasmatiques AspAT et AlAT.
3. Activité plasmatique de la C.K.
4. Mesure de l'activité de l'aldolase : méthode spectrophotométrique.
5. Mesure de l'activité de la GSH.Px.
6. Mesure de l'activité de la LDH et de ses 5 isoenzymes.

III - Résultats bruts

IV - Analyse statistique des résultats

A - Analyse statistique classique.

1. Résultats moyens et variance pour l'ensemble des animaux.
2. Analyse de variance et comparaison des résultats par élevage.
3. Histogramme - Notion de variabilité individuelle.
4. Correlations et régressions.
 - a. Matrice des coefficients de corrélation entre variables.
 - b. régressions.

B - Analyse statistique multidimensionnelle.

1. Analyse en composantes principales : ACP.
 - a. ACP des variables quantitatives.
 - b. introduction d'une variable qualitative (notion éleveur)
= analyse PRINQUAL.

2. Analyse discriminante.

a. Analyse discriminante descriptive, toutes variables réunies.

b. analyse discriminante prospective.

C - Discussion.

Conclusion

Annexe.

Bibliographie.

Tables des tableaux et schémas.

Imprimerie Offset Vaubecour
L'Imprimerie des Étudiants lyonnais
11, rue Vaubecour
69002 LYON - Tél. (7) 842-45-85

Imprimerie Offset Vaubecour
L'Imprimerie des Étudiants lyonnais
11, rue Vaubecour
69002 LYON - Tél. (7) 842-45-85